

ANNALES  
DE  
L'INSTITUT PASTEUR

**ÉTUDES SUR LE PNEUMOCOQUE**

(ONZIÈME MÉMOIRE)

**RACES DU PNEUMOCOQUE**

par M. NICOLLE et E. DEBAINS.

Toute bactérie (plus généralement, toute cellule) renferme, en nombre inconnu, certains constituants dits *antigènes*, susceptibles d'engendrer, chez les animaux qui les reçoivent, des agglutinines et des lysines. Ces deux groupes d'*anticorps* permettent, à leur tour, de déceler les antigènes qui en ont provoqué l'apparition.

Quand on agglutine des bactéries, d'une espèce donnée, avec des sérums engendrés par des échantillons *convenablement choisis* de cette même espèce, on s'aperçoit que chacun des « sérums-réactifs » employés agit de façon exclusive ou dominante sur une fraction des germes, laquelle est alors considérée comme une *race*. Il convient de noter immédiatement que la notion de race, ainsi conçue, n'est valable qu'au point de vue de la sensibilité des antigènes vis-à-vis des agglutinines. Si l'on étudie, en effet, la sensibilité vis-à-vis des lysines, la notion perd de sa valeur, ainsi que nous l'avons déjà montré pour diverses bactéries et que nous allons l'établir pour ce qui concerne les pneumocoques.

On envisagera donc, ici, les effets des agglutinines (méthode

classique) et des lysines (procédé de Bordet-Gengou; recherche de l'immunité active et passive) sur l'espèce pneumocoque. Nous nous limiterons aux *échantillons solubles dans la bile*, la question des individus insolubles, très ardue, devant faire l'objet d'un travail spécial.

### Effet des agglutinines.

Il a déjà été étudié, au laboratoire (Cotoni et Truche, ces *Annales*, avril 1912), mais avec des sérum trop peu actifs et obtenus par l'injection d'un seul échantillon. Depuis ce moment, les auteurs américains (Avery, Chikering, Cole, Dochez, Gillespie) ont fait connaître l'existence de quatre types : I et II (les plus fréquents), III et IV. Le type II, *peu homogène*, se subdivise en plusieurs groupes; le type IV, *purement négatif*, répond aux individus que n'influencent point les sérum I, II et III. De son côté, Lister a décrit plusieurs races du Transvaal; trois d'entre elles se confondent avec les races américaines (I, II et III); les autres en diffèrent. Parmi ces dernières, l'une se montre très répandue; Lister la nomme race A.

Nous avons repris l'étude de l'agglutination, au moyen des quatre sérum *spécifiques* que notre ami Truche obtient, chez les chevaux, en leur injectant quatre échantillons bien définis; les trois premiers de ces germes ne se distinguent pas des types américains (I, II et III); le quatrième, spécial, a été isolé des troupes noires par Borrel et Kerandel. Nous avons fait agir les quatre sérum de Truche sur un très grand nombre de pneumocoques de provenance variée. Parmi ces pneumocoques, 48 p. 100 étaient immédiatement *agglutinables*; 45 p. 100, *inagglutinables* en apparence, s'aggloméraient facilement après traitement à la méthode Porges modifiée (1); 7 p. 100 se sont montrés *hyperagglutinables* (déjà sensibles au sérum équin normal).

**PNEUMOCOQUES AGGLUTINABLES.** — *Types purs* (70 p. 100). — Echantillons I : 1 p. 100. Echantillons II : 32 p. 100. Echantillons III : 59 p. 100. Echantillons IV : 8 p. 100.

*Types mixtes* (30 p. 100). Echantillons I + II : avec I dominant, 61 p. 100

(1) M. NICOLLE, C. JOUAN et E. DEBAINS. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 12 octobre 1918.

sans dominance, 9 p. 100. Echantillons II + III (avec II dominant) : 9 p. 100. Echantillons IV + II (avec IV dominant) : 9 p. 100. Echantillons I + II + IV (I et II dominants) : 9 p. 100.

**PNEUMOCOQUES INAGGLUTINABLES.** — *Types purs* (91 p. 100). — Echantillons I : 9 p. 100. Echantillons II : 82 p. 100. Echantillons III : 3 p. 100. Echantillons IV : 6 p. 100.

*Types mixtes* (9 p. 100). — Echantillons II + I (II dominant), échantillons II + IV (II dominant), échantillons II + IV (sans dominance) : aaa, 33,3 p. 100.

**PNEUMOCOQUES HYPERAGGLUTINABLES.** — Echantillons avec II dominant : 60 p. 100. Echantillons avec II + IV dominants : 40 p. 100.

*En résumé, chez les échantillons hyperagglutinables, l'antigène II domine.*

*Chez les agglutinables, les types mixtes sont fréquents, le type de beaucoup le plus fréquent étant I + II avec I dominant ; parmi les types purs, il faut noter la rareté actuelle du type I et l'abondance des types II et surtout III.*

*Chez les inagglutinables, les types mixtes sont peu répandus (dominance de l'antigène II) ; parmi les types purs, l'immense majorité appartient au type II.*

*L'antigène II se montre donc actuellement dans la majorité des pneumocoques, soit pur, soit associé ; cette particularité inattendue ne tient pas à une plus grande « force » du sérum II.*

Il n'existe aucun rapport entre la race des pneumocoques et leurs autres propriétés. Notons, cependant, que l'état muqueux ne se trouve lié qu'aux antigènes II et III (purs ou associés) ; il n'affecte pas de relations avec l'inagglutinabilité.

### Effet des lysines.

L'étude de l'agglutination montre donc, chez les pneumocoques, tantôt un seul antigène, tantôt 2 ou 3, selon l'abondance respective de ceux-ci. Les types *purs*, c'est-à-dire caractérisés par l'existence apparente d'un seul antigène, se révèlent moins fréquents que chez les méningocoques ; il ne faudra pas s'en étonner désormais, dans la séro-identification des pneumocoques.

L'étude des lysines ne montre point de types *purs*. Elle n'en a d'ailleurs jamais montré, jusqu'ici, chez les diverses espèces bactériennes que nous avons examinées sous ce rapport.

## RÉACTION DE BORDET-GENGOU.

Tous nos échantillons fixent le complément avec les quatre sérum de Truche et la fixation n'est pas toujours dominante avec le sérum qui s'était révélé seul actif, ou principalement actif lors de l'agglutination.

## RECHERCHE DE L'IMMUNITÉ ACTIVE ET PASSIVE.

À ce point de vue, Neufeld reconnaît au moins quatre types, affirme-t-il. Les travaux des auteurs américains ne permettent aucune conclusion, parce que la « force » très variable de leurs trois sérum (I, II et III) rend impossible toute espèce d'expérience croisée *in vivo* en matière d'immunité passive.

Les recherches de M<sup>elle</sup> Raphael (ces *Annales*, janvier 1920, t. XXXIV, p. 26) montrent que l'étude de l'immunité active ou passive ne conduit pas à la notion de types nettement tranchés.

Nous conclurons que les races pneumococciques des auteurs — « races antigènes » — ne sont décelables que dans les expériences d'agglutination.

# LES CONDITIONS DE NUTRITION DES ANOPHÈLES EN FRANCE

(*ANOPHELES MACULIPENNIS*)

## ET LE RÔLE DU BÉTAIL DANS LA PROPHYLAXIE DU PALUDISME

par E. ROUBAUD.

Ce travail doit être considéré comme la suite directe de mes recherches antérieures sur le pouvoir infectant des Anophèles de France (1), recherches qui maintenaient à l'état d'hypothèses la solution de certains problèmes troublants de la malariologie.

L'existence maintes fois constatée de l'« Anophélisme sans paludisme », la régression manifeste et *spontanée* du paludisme dans beaucoup de régions anciennement palustres de l'Europe occidentale, et, en particulier, en France, sont en effet des questions encore inexpliquées et dont l'intérêt domine certainement, à l'heure actuelle, l'histoire épidémiologique de cette affection. J'ai montré, dans mes précédentes études sur la transmission du paludisme en France, qu'on ne saurait faire appel, pour expliquer ces faits, à l'immunité naturelle ou acquise des Anophèles, suivant l'hypothèse, très logique pourtant, envisagée par différents auteurs, Grassi, Schaudinn, A. Celli, Laveran, etc. Les *A. maculipennis* des régions non palustres n'ont rien perdu de leur réceptivité à l'égard des *Plasmodium*, rien perdu non plus de leur pouvoir infectant vis-à-vis de l'homme, puisqu'un seul Anophèle infecté, après une seule piqûre rapide, m'a transmis une infection à *Pl. vivax* dont les manifestations pathogènes, malgré un traitement soutenu à la quinine, ont persisté pendant près de deux années. Or il n'est pas douteux, d'autre part, que non seulement l'affection palustre a rétrocédé largement dans nos contrées, au

(1) Recherches sur la transmission du paludisme par les Anophèles français de régions non palustres. Ces *Annales*, t. 31, p. 430, septembre 1918.

cours du siècle dernier, sans causes bien définies, mais encore que les recrudescences imputables aux apports de virus causés par la guerre ont été insignifiantes.

Il est évident, par suite, que si l'*Anopheles maculipennis*, le plus abondant et le plus généralement répandu des Anophèles de nos régions, n'exerce pas, d'une manière plus intensive, ses propriétés pathogènes en France, c'est que quelque particularité de sa biologie s'y oppose, en restreignant au minimum les rapports du moustique avec l'homme. L'histoire épidémiologique du paludisme en France montre, d'une part, que cette particularité biologique s'est progressivement affirmée au cours des temps, puisque l'extinction spontanée du paludisme s'est manifestée insensiblement peu à peu ; et d'autre part, l'élosion incontestable de petits foyers palustres, constatée pendant la guerre, dénote également qu'une telle particularité n'est pas absolue, mais susceptible d'une certaine réversibilité, quoique dans une mesure très étroite.

La solution de cette question, dont l'importance pratique, en dehors de l'intérêt scientifique, n'est pas à démontrer ne peut résulter que d'une connaissance précise des mœurs de l'espèce anophélienne dominante, en fait l'*A. maculipennis*, de son « comportement » à l'état adulte et surtout de la valeur précise de ses rapports avec l'homme.

Or il convient de faire remarquer à ce sujet que, si l'on connaît parfaitement l'existence très générale de ce moustique dans nos régions, c'est presque toujours grâce à la recherche des larves, et c'est, dans la majorité des cas, sous cette seule forme évolutive qu'on le signale et l'étudie dans la nature. De l'existence des larves d'Anophèles dans une localité, on déduit immédiatement la présence possible de ces moustiques dans les foyers domestiques, avec les conséquences que cette invasion comporte au point de vue de la pathogénie. La grande majorité des nombreux travaux, qu'a fait éclore pendant la guerre la question du paludisme autochtone, prend ce thème pour base comme un dogme absolu et les mesures prophylactiques sont édictées en conséquence. Quant au moustique adulte, s'il est parfois signalé c'est en quelque sorte accessoirement et sans qu'on lui accorde réellement l'attention nécessaire.

On peut dire qu'on ne connaît guère l'*A. maculipennis* à l'état

adulte, dans les régions non palustres de l'Europe occidentale, que dans sa période de repos. On sait d'une façon courante qu'il est facile de le rencontrer, surtout en hiver, dans les habitations chaudes, de préférence dans les écuries et les étables où les femelles passent la saison froide. Mais quant à ses habitudes de vol et de nutrition sanguine, elles n'ont pour ainsi dire jamais fait l'objet, dans les conditions naturelles, d'une étude systématique.

J'ai déjà fait précédemment remarquer (1) que, pour les anciens diptérologues, Meigen, Macquart, Schiner, etc., les aptitudes à l'hémophagie de nos Anophèles régionaux étaient douteuses. Cette constatation exprime bien le caractère discret, en quelque sorte énigmatique, qui préside dans nos pays aux manifestations hémophages de ces moustiques. Nuttall, Cobbett et Strangeways-Pigg (2), dans leur étude bien connue sur la Distribution des Anophèles en Angleterre, signalent n'avoir jamais été piqués par un seul de ces Culicides, et n'en avoir jamais observé en dehors des habitations. Ils mentionnent, également, à ce sujet, une assertion de Theobald qui est conforme à ces constatations : cet auteur n'aurait jamais eu connaissance de la piqûre des Anophèles en Angleterre. Il s'agit là de travaux déjà anciens, modifiés un peu par les observations plus récentes, mais qui traduisent bien, néanmoins, le fait dont il s'agit.

En France, également, bien que les larves soient faciles à rencontrer à peu près partout, même dans les villes, les moustiques adultes passent le plus souvent inaperçus.

En dehors des observations faites par les Sergent en Vendée et aux environs de Paris, sur lesquelles nous allons revenir, tous ceux qui ont chassé les Anophèles dans nos régions savent qu'on ne les voit pas souvent piquer l'homme. « Là où dominent les gîtes à Anophèles, écrit Mandoul (3), les habitants ne se plaignent pas d'être importunés par la piqûre de ces insectes, à Luchon notamment. Pour ma part, j'ai essayé en vain de me faire piquer dans cette dernière ville, au voisinage même des

(1) *Loc. cit.*, p. 449.

(2) *Journ. of Hyg.*, t. 1, janvier 1901, p. 10.

(3) Mission antipaludique dans la XVII<sup>e</sup> région. *Bull. Soc. Path. exot.*, 10 décembre 1919, p. 793.

gîtes, après le coucher du soleil. Il est enfin exceptionnel de capturer des Anophèles adultes dans les habitations. » Ces constatations de Mandoul peuvent être prises comme type des conditions courantes de l'Anophélisme en France. Quelle peut être la raison d'un fait aussi éminemment singulier, qui cependant ne paraît pas avoir nettement retenu l'attention, en notre pays comme ailleurs?

En me basant sur les particularités de vol observées à Panama par J. Le Prince et Orenstein pour certaines espèces anophéliennes, j'avais supposé, pour expliquer les faits, que la protection humaine relevait avant tout de l'éloignement des zones de parcours des moustiques. Mais si le fait paraît valable pour l'*A. bifurcatus*, espèce de plein air, piquant volontiers dans les bois et la campagne, il ne l'est plus pour l'*A. maculipennis* qui fréquente couramment les lieux habités; il faut alors ramener la question à des habitudes particulières de nutrition des femelles. A ce point de vue, on possède déjà quelques données qui laissent entrevoir la vie de l'Anophèle comme tributaire non seulement de l'homme, mais parfois aussi, pour des raisons mal déterminées, des animaux.

Certains auteurs ont bien constaté que l'*A. maculipennis* manifeste un goût marqué pour le sang des animaux. C'est incontestablement à Grassi que l'on doit les premières observations précises sur ce sujet. L'auteur italien écrit (1) que la femelle se nourrit normalement de sang et, lorsqu'elle peut en rencontrer, exclusivement de sang de vertébrés à sang chaud. Elle préfère le sang des mammifères, mais suce aussi parfois celui des oiseaux (volailles, passereaux, oiseaux de proie), quoique avec une certaine répugnance. Sans paraître réellement marquer de préférence particulière pour certains types de mammifères, elle est attirée par eux en raison de leur taille : les plus gros exercent une attraction plus grande, à tel point que lorsqu'un homme est placé dans le voisinage d'un cheval, le cheval est piqué, non pas l'homme; et qu'au contraire, s'il s'agit d'un homme et d'un lapin, l'homme est généralement assailli le premier. Il ne s'agit donc pas d'une préférence réelle, mais plutôt d'une action attractive proportionnée à la taille de l'hôte.

(1) Studi di uno Zoologo sulla Malaria, *Rend. R. Ac. dei Lincei*, 1900, p. 82-83.

Celli et Gasperini (1) vont plus loin encore; ils signalent qu'en Toscane l'Anophèle montre une préférence réelle pour le bétail bovin et ne pique pas volontiers l'homme. Des Anophèles capturés dans des régions exemptes de paludisme ont été relâchés dans un local renfermant des paludéens : 3,5 p. 100 à peine de ces moustiques ont consenti à sucer le sang des malades, et de plus, les auteurs notent que très peu des moustiques gorgés ont contracté l'infection sporocystique. Ces observations tendraient à prouver que les régions à Anophèles, sans paludisme, doivent leur immunité à une double cause : la préférence des moustiques pour le bétail, et la non-réceptivité de ces races anophéliennes à l'égard de l'infection.

Nous avons déjà montré, qu'au moins en France, cette dernière interprétation n'est pas confirmée par l'expérience. Quant aux conditions expérimentales invoquées pour établir que l'*A. maculipennis* ne pique pas volontiers l'homme, elles sont, nous le verrons plus loin, trop artificielles pour qu'il soit possible de faire fonds sur elles. Il convient, toutefois, d'accorder, en passant, une attention particulière à une phrase des deux auteurs italiens qui ne prête pas autrement à discussion dans le travail, mais qui nous paraît à noter : « Les paysans savent que les moustiques capturés dans les chaumières piquent davantage l'homme que ceux capturés dans les étables. » Nous verrons dans le cours de ce travail ce qu'il convient de penser de cette assertion qui a pour base l'observation exacte de gens vivant étroitement avec l'Anophèle et comment il y a lieu de la comprendre.

Les travaux récents mentionnent fréquemment en Europe la présence de l'Anophèle dans les écuries ou les étables. C'est ainsi qu'en Allemagne, Mühlens (2) a observé, aux environs de Wilhemshaven, les Anophèles dans les étables à bestiaux (vaches, porcs), où ces moustiques passent l'hiver. Ils préfèrent les animaux à l'homme, et l'étude du contenu de leur estomac montre qu'ils se nourrissent exclusivement du sang des animaux, bovins, porcs, avec lesquels ils cohabitent, même en hiver. On ne trouve pas de sang humain dans les Anophèles

(1) *Atti. d. Soc. Stud. d. Malar.*, t. 3, 1902, p. 141.

(2) *Archiv f. Schiffs- u. Trop. Hyg.*, t. 13, 1909; *Beiheft 6*, p. 169.

des étables. L'auteur parle d'une « véritable symbiose » existant entre les Anophèles et les animaux domestiques locaux.

H. Prell (1), dans le Wurtemberg, constate également que les adultes s'observent beaucoup plus souvent que les autres moustiques dans les étables à bœufs ou à chèvres. Ils sont plus rares dans les écuries des chevaux, les étables à porcs, etc.

En Angleterre, on trouve dans la brochure avec carte, récemment consacrée par W. D. Lang à la distribution des Anophelines (2), des documents instructifs concernant l'éthologie de l'*A. maculipennis*. Le moustique est très souvent rencontré dans les étables et les porcheries, beaucoup plus rarement dans les chambres d'habitation. Il a été observé piquant un cheval (obs. 250) et gorgé de sang dans des étables à bœufs. Parmi les nombreux observateurs qui ont contribué à l'édition de cette carte, deux ou trois à peine ont vu l'Anophèle s'attaquer à l'homme. Un seul (Burton) précise que l'Anophèle piquerait toute l'année (3), mais qu'il préfère les enfants aux adultes. Notons tout de suite ici, qu'en réalité, dans les diverses observations relatives à l'homme, dont il s'agit, c'est, dans le plus grand nombre des cas, à la fin de l'hiver et au premier printemps que des femelles ont été vues cherchant à piquer dans les maisons. Bien que le fait ne soit pas souligné, il a une réelle importance, comme nous le montrerons ultérieurement.

On doit à Ed. et Et. Sergent (4) des constatations encore inexpliquées, touchant certaines différences dans les rapports avec l'homme présentés par les Anophèles, en régions palustres ou non.

Ces auteurs ont fait remarquer qu'en Vendée, comme en Algérie, régions où le paludisme est endémique, on trouve les Anophèles en grand nombre dans les maisons, tandis qu'ils y

(1) *Zeitsch. f. Wiss. Biol.*, t. 43, 1917-1918. Tout récemment Tänzer et Osterwald observent que les Anophèles ont abandonné l'habitation humaine pour les écuries, à mesure que l'habitation devenait plus propre (*Deutsche med. Woch.*, 19 juin 1919).

(2) A Map showing the known distribution in England and Wales of the Anopheline mosquitoes, with explanatory text and notes. — *Brit. mus. (Nat. hist.)*, Londres, 1918.

(3) Les observations de Burton ont été publiées pour la première fois par Theobald, dans sa monographie des Culicides, t. 5, 1910.

(4) Régions à Anophèles sans paludisme, *C. R. Soc. Biol.*, 14 novembre 1903 et Essai de campagne antipaludique selon la méthode de Koch (lac de Grandlieu), ces *Annales*, t. 48, février 1904.

sont au contraire exceptionnels aux environs de Paris et dans la vallée de l'Essonne, régions non palustres. « Il semble que les *A. maculipennis*, presque domestiqués en Algérie et en Vendée, recherchent moins l'homme dans les environs de Paris. » La raison de ces singulières différences éthologiques, les auteurs tendent à la rechercher dans les différences climatériques : la Vendée jouit d'un climat beaucoup plus doux que celui du bassin de la Seine ou de la vallée de l'Essonne.

Il faudrait donc ici admettre que les rapports de l'Anophèle avec l'homme sont influencés par le climat, et que plus la température moyenne est douce, plus le moustique tend à pénétrer dans les habitations. Et cependant on sait que le paludisme a sévi et règne encore dans certaines régions de l'Europe septentrionale où la température moyenne est loin d'être celle de la Vendée. Si donc cette interprétation est exacte, elle ne suffit pas cependant, par elle seule, à éclairer réellement la question si obscure de l'Anophélisme sans paludisme.

Nous avons indiqué sommairement les principales inconnues de ce problème d'aspect complexe. Une question, selon nous, prime toutes les autres, c'est celle des rapports nutritifs des Anophèles avec l'homme et les animaux (1). J'ai tenté de lui apporter une solution d'ordre biologique en étudiant de très près, à ce point de vue et comparativement, l'*A. maculipennis* dans la région vendéenne, qui constitue en France un lieu classique d'endémie palustre, et dans les environs de Paris (Chatou). Je dois dire tout de suite que le résultat apparent de ces recherches est bien conforme à celui qu'ont souligné les Sergent. Les *A. maculipennis* des grandes régions marécageuses de Vendée et de la Loire-Inférieure ont des rapports plus fréquents avec l'homme que n'en ont normalement ceux du bassin de la Seine. Mais ce n'est là qu'une différence *apparente d'habitudes*; en fait, il n'y a pas d'écart biologique notable entre les Anophèles des deux régions. Le climat ne saurait intervenir que d'une façon bien secondaire dans les variations de « comportement » des moustiques. Ce qui, pour nous, domine toute la question, c'est l'équilibre plus ou moins parfait de

(1) J. Legendre, dans une Note parue au cours de l'impression de ce mémoire, développe des arguments analogues. *C. R. Acad. des Sciences*, 22 mars 1920.

nutrition sanguine de la faune, équilibre qui, comme nous l'avons déjà sommairement indiqué (1), relève en majeure partie de l'abondance relative du bétail domestique.

Pour se représenter les faits dans leur valeur réelle, il est nécessaire d'analyser dans le détail les conditions de l'Anophélisme telles qu'elles s'offrent à l'examen dans les deux régions typiques. Le résultat de cette analyse éclaire singulièrement, comme on va le voir, les questions fondamentales que nous posons au début et dont la solution, au moins partielle, a constitué le principal mobile de notre recherche.

## I

**L'ANOPHÉLISME AU MARAIS VENDÉEN**

J'ai choisi, comme centre d'investigations dans la Vendée, la région côtière comprise entre les Sables d'Olonne et l'embouchure de la Vie, celle du Grand Marais occidental qui s'étend de Saint-Hilaire-de-Riez à Bourgneuf; enfin, à l'est, aux confins de la Loire-Inférieure, celle du lac de Grandlieu, déjà étudiée autrefois à ce point de vue par les Sergent.

Tandis que, dans la région des Sables à Saint-Gilles, les zones marécageuses sont étroites et limitées au cours inférieur des rivières : la Vertonne, l'Auzance, le Jaunay, etc., le Grand Marais occidental formé de terres progressivement conquises sur l'Océan depuis plusieurs siècles, offre 36 lieues de périmètre et plus de 57.000 hectares de superficie. La surface marécageuse du lac de Grandlieu, formée d'alluvions boueuses qui s'élèvent sans cesse, couvre, elle, près de 4.000 hectares en été lorsque les eaux sont les plus basses.

Les terres basses du Grand Marais, à l'origine simplement exploitées pour la pêche ou pour la chasse, sont presque entièrement transformées aujourd'hui en prés et en pacages remarquablement propices à l'élevage. Tous ces prés sont drainés par un réseau de fossés ou de canaux encombrés d'herbes qui enclôt complètement chaque pièce de terre et qu'il faut fran-

(1) Antagonisme du bétail et de l'homme dans la nutrition sanguine de l'*A. maculipennis*. *C. R. Acad. Sciences*, t. 169, 8 sept. 1919, p. 483.

chir à la perche pour pénétrer dans les pâtures. Ce lacis de canaux est lui-même en rapport avec des *étiers* ou canaux salés communiquant avec la mer et garnis d'écluses, qui permettent ou non l'accès des eaux marines et régularisent les inondations du marais. En hiver et au printemps, les prés sont couverts d'eau; en été, au contraire, le desséchement est tel qu'il est nécessaire de faire jouer les écluses pour ramener les eaux.

Dans le marais vendéen, la vie humaine est à l'heure actuelle exclusivement consacrée à l'élevage. Des bêtes à cornes nombreuses, des chevaux, des ânes, des moutons pâturent librement en été dans les prés entourés d'eau. Ça et là, isolées toujours, se dressent, au milieu des roseaux, les habitations ou *bourrines*, demeures basses et d'aspect misérable construites en terre battue, couvertes de chaume, qui ne se distinguent guère des « cases » indigènes en pays tropical. Ce type d'habitation, autrefois absolument général dans le marais, tend d'ailleurs un peu à disparaître. Au voisinage des gros centres, les bourrines cèdent de plus en plus la place à des demeures plus confortables, construites en pierres, couvertes en tuiles et dont l'intérieur est souvent d'une propreté extrême.

Quelles que soient les conditions d'habitation, il s'agit toujours de demeures basses, sans étage ni grenier, et dont les écuries ou les étables avoisinent directement le corps de logis.

Les régions marécageuses de la Vendée détiennent une réputation très ancienne d'insalubrité. Cette réputation dure encore, mais elle est certainement injustifiée. La plupart des habitants adultes ne connaissent les fièvres que par ouï-dire, à l'exception des vieillards. Le paludisme vendéen peut être considéré comme en régression complète, depuis plus de vingt ans (1), et limitant surtout aux enfants ses manifestations, en général assez bénignes. Des fièvres périodiques, connues sous les noms locaux de fièvres de marais, fièvres de vers, de lune, de saisons, sévissant surtout au printemps, sont en effet signalées

(1) Le paludisme, selon Ed. et Et. Sergent, a beaucoup diminué d'intensité depuis vingt-cinq ans, dans la région de Saint-Philbert-de-Grandlieu, comme dans toute la Vendée. Cette régression paraît avoir continué à se manifester depuis l'époque (1903) où les auteurs en ont constaté différents cas dans les fermes des abords du lac. Lors de mon passage, en juillet 1919, je n'ai pu recueillir personnellement aucune observation de paludisme *actuel* dans la même région.

avec une grande constance dans toute la région des marais, chez les enfants. Cliniquement, ces fièvres paraissent pouvoir être rapportées au paludisme, mais le diagnostic microscopique reste à faire.

L'extinction progressive de l'affection palustre, parfaitement nette en Vendée, peut y être presque partout qualifiée de spontanée. A part l'usage de la quinine et quelques mesures locales relatives au drainage et à l'irrigation, on ne peut dire qu'on ait systématiquement organisé dans ces régions la lutte anti-paludique. Or il est un fait certain, c'est que le paludisme tend de plus en plus en Vendée à passer à l'état de souvenir, qu'aucune recrudescence de cette affection ne s'est manifestée depuis la guerre, malgré le retour d'un grand nombre de démobilisés paludéens d'Orient. Et d'autre part, en contradiction absolue avec ces faits, on peut affirmer qu'*aucune région du monde n'est aussi richement pourvue d'Anophèles* que la région des marais vendéens. Cette région constitue donc une région de choix pour l'étude des problèmes qui nous intéressent.

DENSITÉ RELATIVE DE LA FAUNE ANOPHÉLIENNE EN VENDÉE.  
INVERSION APPARENTE DE LA DENSITÉ DES LARVES ET DES ADULTES.

L'*A. maculipennis* existe seul, dans toutes les régions que j'ai visitées. Presque toujours présent, en quantités médiocres, dans les villages de l'intérieur, ce moustique est véritablement le roi des grandes régions marécageuses, marais vendéens, abords du lac de Grandlieu, etc. Pour se faire une idée de la densité de la faune anophélienne locale, il suffit de jeter un coup d'œil sur le plafonnement des écuries et des abris à bestiaux. On est alors surpris de la prodigieuse quantité d'Anophèles qui s'y rencontrent. Nous en aurons un aperçu d'après les observations que je détaille plus loin.

Un fait frappe immédiatement, lorsqu'on procède à la recherche systématique des larves, c'est que, dans la région des grands marais, là où la population anophélienne adulte est si particulièrement dense, les larves sont excessivement difficiles à découvrir, toujours rares et isolées; tandis qu'au contraire dans les régions situées en dehors des grandes collections d'eau où, comme nous l'avons vu, les Anophèles adultes sont

relativement peu nombreux, il est facile de rencontrer des larves en assez grande abondance dans les petits gîtes isolés qui les nourrissent.

Ainsi, pas plus que les Sergent, je n'ai pu pêcher de larves dans les eaux du lac de Grandlieu, même dans la zone largement inondée du sud-est, alors que dans la campagne les petites mares, les fossés des routes, etc., en montrent presque toujours. Faut-il, avec ces auteurs, en chercher l'explication dans le fait que les grandes surfaces d'eau sont trop exposées au vent pour que les femelles viennent y pondre? Non, car dans les canaux étroits qui drainent en tous sens le grand marais occidental et sont le plus souvent protégés du vent par un peuplement dense de roseaux et de rouches, il en est de même. C'est tout à fait exceptionnellement que j'ai pu rencontrer une ou deux larves isolées dans les fossés ou canaux des grands marais, malgré des perquisitions nombreuses. Je n'en ai point non plus recueilli dans les marais moins étendus, mais cependant encore assez importants qui, plus au sud, bordent le cours du Jaunay, celui de la Véronne et de l'Auzance. Au contraire, larves nombreuses et faciles à rencontrer dans la campagne, soit dans les fossés bordant les champs et les routes, soit dans les mares à bestiaux, les trous d'eau, même en bordure de l'Océan (Croix de Vie).

Ainsi, en ne tenant compte que des apparences, ce résultat pourrait s'exprimer d'une façon paradoxale par la proposition suivante : *plus les larves sont abondantes moins les adultes le sont et inversement.*

Mais cette inversion dans la densité des larves n'est qu'apparente, et elle doit selon nous s'interpréter autrement. En réalité, il faut comprendre que si les larves sont rares et clairsemées dans les grandes étendues marécageuses, cela tient à ce que les femelles ont à leur disposition pour pondre une surface immense et peuvent ainsi choisir certaines places plus particulièrement privilégiées, dispersant leurs œufs au lieu de les concentrer sur le même point. Lorsqu'au contraire les femelles n'ont à leur disposition que des gîtes peu nombreux et de médiocre importance, les pontes se multiplient obligatoirement sur de faibles surfaces, et la population larvaire se presse au maximum dans les gîtes. Il en résulte que le développement de

la densité anophélienne reste limité par suite de la concurrence qui s'exerce à l'état larvaire, tandis qu'au contraire dans les grands marais, où semblable facteur n'intervient pas, la densité de la faune peut atteindre toute son ampleur et cette ampleur n'est pas directement en rapport avec l'abondance relative de nourriture sanguine offerte à la faune.

Il me paraît important de mettre ces détails en pleine lumière, parce qu'ils démontrent que la densité de la population anophélienne d'un district donné dépend bien moins de l'abondance relative des hôtes nourriciers, que de l'étendue ou de la richesse des lieux de développement larvaires. Nous reviendrons sur ce fait ultérieurement. D'autre part aussi, il résulte de ce que nous venons de dire que la recherche seule des larves d'*A. maculipennis* ne peut donner qu'une idée très imparfaite de la véritable densité de cette faune. Ce n'est pas parce que les larves sont particulièrement nombreuses et faciles à rencontrer dans de petites collections d'eau, qu'on pourra suspecter un développement tout particulièrement abondant de la population anophélienne locale. Bien au contraire il conviendra plutôt de songer à des gîtes d'occasion et de suppléance, témoins d'une petite faune sporadique dont le développement restera limité de par l'exiguité de ses lieux de développement.

C'est avant tout par la recherche des moustiques adultes, que pourra s'apprécier la valeur de la densité anophélienne, au moins pour l'espèce qui nous occupe. Où recherchera-t-on les adultes? C'est ce que nous allons examiner.

NATURE DES ABRIS RECHERCHÉS PAR L'ANOPHÈLE.  
ADAPTATION AUX CONSTRUCTIONS HUMAINES. PRÉFÉRENCE  
POUR LES ABRIS DE BÉTAIL.

L'*Anopheles maculipennis* passe ses heures d'inactivité abrité à l'intérieur des constructions humaines, maisons d'habitation et leurs dépendances, étables ou écuries à bestiaux. On ne le rencontre habituellement ni dans les terriers d'animaux sauvages, ni dans les cavités d'arbres, ni dans quelque autre abri naturel; on peut dire qu'il s'est entièrement adapté aux abris artificiels édifiés par la main de l'homme, et dans son voisinage.

Dans les constructions abandonnées, dans les abris ou locaux inoccupés soit par l'homme, soit par ses bestiaux, l'Anophèle est toujours très rare, lorsqu'il existe. De plus ce sont presque toujours des mâles qu'on rencontre dans ces conditions. Au contraire, dans les locaux occupés par un hôte le nombre des moustiques est toujours infiniment plus considérable et les femelles prédominent. Ceci indique, sans plus ample examen, que l'Anophèle vient aux abris pour se nourrir, en même temps que pour se reposer. Comme la nécessité de l'alimentation sanguine ne guide pas le choix des mâles, on trouve ces derniers indépendamment des hôtes, dans tous les abris favorables, mais plus abondants vers les marais. Les femelles recherchent des constructions habitées par des hôtes, et souvent à plus grande distance des lieux de développement.

Les preuves abondent, ainsi que nous l'établirons plus loin, que l'*A. maculipennis* pique avant tout à l'intérieur des abris. Mais comme on rencontre aussi presque toujours dans ces mêmes abris des femelles jeunes, non gorgées de sang et des mâles qui ne se nourrissent pas de sang, comme aussi en l'absence d'hôtes la faune anophélienne affamée ne se presse pas moins sous le toit des locaux domestiques, on peut affirmer que la nécessité de l'abri humain, pour l'*A. maculipennis*, n'est pas absolument liée à la nutrition sanguine. La recherche des constructions humaines résulte avant tout d'un tactisme spécifique, étroitement sélectionné sans doute au cours des temps, et qui guide le moustique vers ces abris, à l'exclusion d'autres abris naturels, pour y passer sa longue période d'inhibition journalière. Je ne pense pas, d'autre part, qu'il s'agisse d'un thermotropisme et que, comme on l'a dit, l'Anophèle recherche en particulier les écuries pour la chaleur qu'elles dégagent : dans la région vendéenne les Anophèles s'observent souvent en plus grand nombre dans des abris précaires, largement ouverts, que dans les écuries closes. Ils évitent simplement les zones battues par les courants d'air, et s'abritent seulement contre le vent et la lumière.

Dans la Vendée et ses confins, comme nous l'avons dit plus haut, l'habitation humaine rurale est toujours basse, sans étage ni grenier et de plain-pied avec le sol; la même pièce sert en général de salle à manger et de chambre à coucher. De plus le

bétail est le plus souvent installé, sauf dans les fermes de quelque importance, dans une étable directement attenante à la chambre d'habitation. Ces demeures basses, abritant à la fois le bétail et les gens, sont donc particulièrement propices à la visite des Anophèles, qui volent peu en hauteur. Dans les marais surtout, les *bourrines* de terre battue, couvertes de chaume, qui rappellent si étroitement les gourbis arabes ou les cases sénégalaises, n'offrent, avec leurs ouvertures mal jointes, aucune entrave au libre passage des moustiques. Or, il est frappant de constater combien est insignifiant, dans des conditions semblables, le nombre des Anophèles qui fréquentent les pièces habitées par les gens, en comparaison des quantités énormes qui peuvent être capturés dans les locaux voisins occupés par les bestiaux. Je citerai au hasard les observations suivantes :

OBSERVATION A. — Maison de cultivateur près Saint-Hilaire-de-Riez, sise entre le Coin de Besse et les cultures maraîchères de la Féé. *Plusieurs milliers* d'Anophèles visibles dans l'écurie attenant à la chambre d'habitation. Capturés au hasard et comptés en une seule fois 1 687 *A. maculipennis*. L'écurie renferme un cheval, une génisse et des lapins. Dans la pièce d'habitation occupée par deux personnes, un seul Anophèle ♀ a pu être aperçu, lors d'une première visite. Au deuxième examen aucun Anophèle visible.

OBSERVATION B. — Maison bourrine au voisinage de la route de Soullans. Plusieurs centaines d'Anophèles visibles dans les abris à moutons, le poulailler, etc. Capturés au hasard dans ces abris 138 *A. maculipennis* en quelques coups de filet. Dans la pièce d'habitation occupée par une femme et un jeune garçon une perquisition attentive ne ramène que 19 Anophèles capturés dans les recoins sombres du chaumage.

OBSERVATION C. — Maison sise au village du Pissot. Dans la maison d'habitation occupée par une femme et deux enfants, aucun Anophèle visible lors de la visite. Dans le poulailler attenant, capturé 125 Anophèles; dans la cabane à lapin plus de 200 Anophèles visibles (capturé lors de cet examen 103). Dans l'écurie des chevaux, séparée de la maison par la route, le nombre des Anophèles visibles peut être estimé à plus de 5.000. Capturés en quelques coups de filet 579 *A. maculipennis*, 2 *Theobaldia maculata*.

OBSERVATION D. — Habitation de cultivateur sise aux abords du marais, sur la route de Saint-Jean-de-Mont. Maison neuve, bien construite, couverte en tuiles, occupée par un ancien combattant de l'armée d'Orient rentré impaludé en France, sa femme et un jeune enfant. Trois Anophèles seulement visibles après un examen minutieux, dans la pièce d'habitation. Deux capturés : un ♂, une ♀ fraîchement gorgée. Par contre, dans un appentis en branchages attenant à la maison et destiné à abriter le bétail actuellement absent, capturé rapidement 64 Anophèles.

OBSERVATION E. — Maison bourrine, sise en plein marais, entre la route de

Saint-Jean-de-Mont et celle du Perrier. Cette habitation, nouvellement construite, comprend deux pièces, l'une servant spécialement pour le coucher. Dans la salle à manger, capturé 3 Anophèles dont 2 ♂ et une ♀ non gorgée. Dans la chambre à coucher 17 Anophèles, dont 2 seulement gorgés de sang. Au contraire, dans une petite hutte en branchages, où couche une gémisse à proximité de la maison, *plusieurs milliers* d'Anophèles sont visibles. Capturé rapidement en quelques coups de filet 672 *A. maculipennis*.

OBSERVATION F. — Maison de cultivateurs, dans la campagne, aux environs de Saint-Gilles-sur-Vie. Dans la chambre d'habitation *aucun* Anophèle visible. Dans l'étable à vaches attenante à celle-ci *une centaine* d'*A. maculipennis*.

OBSERVATION G. — Habitation, sise aux abords du lac de Grandlieu, à Sainte-Lumine, dernière maison sur la route du lac. Dans la chambre à coucher une douzaine d'Anophèles ont pu être capturés. Une vingtaine visibles. Dans l'écurie en branchages attenant à la maison, *plusieurs centaines* sont visibles.

En résumé, deux faits doivent être retenus de ces observations : 1<sup>o</sup> en Vendée, au voisinage des grands marais où les Anophèles pullulent, l'*A. maculipennis* peut être rencontré dans les maisons, au voisinage de l'homme ; 2<sup>o</sup> le nombre des Anophèles qu'on peut rencontrer dans ces conditions est absolument insignifiant, eu égard à la faune innombrable qui fréquente le bétail. On peut en conclure déjà qu'un heureux antagonisme existe, au point de vue de la nutrition des Anophèles, entre l'homme et le bétail, ce dernier ayant de beaucoup le pas sur le premier. L'examen des conditions d'alimentation des moustiques, capturés chez l'homme ou chez les différents animaux, renforce singulièrement encore cette conception, d'une façon générale. Cet examen montre, d'une part, que l'homme ne joue qu'un rôle des plus effacés dans la nutrition de la faune anophélienne, et d'autre part que les différents animaux domestiques n'ont pas tous, à cet égard, la même valeur.

#### PROTECTION NORMALE DE L'HOMME ADULTE EN VENDÉE.

#### PRÉFÉRENCE DES ANOPHÈLES POUR LES ENFANTS.

Il est d'ailleurs facile de se rendre compte directement que les Anophèles vendéens ne piquent pas volontiers l'homme. Il suffit de se rendre à la nuit tombée dans les bourrines du marais, lorsque les Anophèles sont entrés dans leur période d'activité. J'ai pratiqué l'expérience plusieurs fois, séjournant en juin et juillet de 20 h. 30 à 22 h. 30, par temps chaud et

nuit claire, soit à la porte des habitations ou des écuries, soit à l'intérieur des locaux précédemment infestés d'Anophèles. J'ai constaté autour de moi le vol d'un grand nombre de moustiques, mais pourtant je n'ai pas eu à souffrir *d'une seule piqûre*. Rien n'aurait pu me faire soupçonner l'innombrable faune anophélienne qui voletait dans mon voisinage.

Troublante est, au contraire, à cet égard, l'observation suivante relatée par Grassi, que l'on peut prendre comme terme de comparaison parfait, parce qu'elle a été faite à peu près dans les mêmes conditions que les miennes, par beau temps et nuit claire. En Italie palustre, à Maccarese, au mois de juillet, de 21 h. 30 à 2 heures du matin, l'auteur italien rapporte qu'il pouvait à peine se défendre contre les piqûres de l'*A. maculipennis*, aussi bien dans une habitation qu'à l'extérieur ! On voit donc combien les conditions de protection humaine contre les attaques du moustique varient suivant les circonstances locales, et tout ce que nous savons prouve que ces circonstances tiennent, avant tout, aux conditions plus ou moins satisfaisantes d'alimentation de la faune anophélienne par les animaux, ainsi que nous l'établirons plus loin.

Dans le marais vendéen, il semble que les enfants soient beaucoup moins protégés contre les piqûres que les adultes. La plupart des enfants montrent de nombreuses traces de piqûres aux bras et aux jambes; les parents témoignent qu'ils peuvent souvent difficilement dormir. Cette préférence pour les enfants ne serait-elle pas bien précisément en rapport avec la persistance chez eux de manifestations fébriles du type palustre, telle que nous l'avons mentionnée précédemment ?

#### IMPORTANCE COMPARÉE DE L'HOMME ET DES DIFFÉRENTS ANIMAUX DE FERME, DANS LA NUTRITION DES ANOPHÈLES VENDÉENS.

Non seulement, les Anophèles ne fréquentent les locaux d'habitation qu'en proportion relativement très faible, mais encore ceux qui se gorgent de sang sur l'homme sont en nombre excessivement restreint. On peut s'en rendre compte par les observations qui suivent :

*Bourrine de l'obs. B.* — Sur 19 Anophèles recueillis au hasard dans la pièce d'habitation, on compte 18 ♀, 1 ♂. Des 18 ♀, 11 sont complètement à jeun;

7 seulement présentent des traces de sang dans leur tube digestif, mais la plupart sont peu gorgées. Une seule abondamment nourrie n'a sucé que du sang d'oiseau (poule sans doute). Sur les 6 autres, le diagnostic de sang humain ne peut être fait que pour 4 ♀, les deux autres ne renfermant plus que du sang digéré. Au total, la proportion de ♀ fraîchement gorgées sur l'homme n'est que de 22,2 p. 100.

*Habitation de l'obs. D.* — Deux *A. maculipennis* capturés, dont une seule ♀, ne présentant que du sang fortement digéré. Pas de sang frais constaté.

*Bourrine de l'obs. E.* — Dans la salle à manger 3 Anophèles capturés : 2 ♂ 1 ♀ à jeun. Dans la chambre à coucher, sur 45 ♀ capturées, 13 sont complètement à jeun. Deux seulement présentent des traces de sang dans l'estomac, une seule de sang humain frais (proportion des femelles gorgées : 6,2 p. 100).

Ainsi, pour l'ensemble de nos observations, la proportion des femelles fraîchement gorgées de sang sur l'homme, dans les habitations, n'excède guère 14,2 p. 100. On peut donc affirmer, bien que cette proportion soit notablement plus élevée que celle donnée par Celli et Gasperini dans leur expérience relatée plus haut, que *l'homme n'est pas volontiers recherché par l'A. maculipennis* en Vendée, et qu'il n'est piqué par le moustique que d'une façon très réservée. Non seulement peu d'Anophèles viennent au contact de l'homme dans les habitations, mais peu d'entre eux se nourrissent de son sang.

Cette donnée s'affirme avec beaucoup plus de force encore, si l'on compare les résultats en question à ceux que fournit l'examen de la faune des écuries. Non seulement la différence porte sur une population d'Anophèles infiniment plus abondante, mais aussi, en général, sur une proportion de moustiques gorgés de sang *fraîs* beaucoup plus élevée (1). De plus, la quantité de sang prise par les femelles sur les animaux est, en général aussi, toujours bien plus forte que sur l'homme.

Voici les résultats que nous avons notés pour les Anophèles

(1) Cette notion de sang *fraîs* est importante à considérer et demande à être sommairement précisée. Il faut à peu près quarante-huit heures, en été à une femelle pour digérer le sang qu'elle a ingéré. Dans les premières vingt-quatre heures, la nature des hématies reste encore bien reconnaissable. Au delà, il n'en est plus de même. Le sang identifiable est donc du sang pris dans les vingt-quatre heures. Lorsqu'elles peuvent le faire, les femelles piquent tous les jours. On trouve dans leur estomac, à la partie antérieure du sang frais, en arrière du sang digéré. Les femelles ne renfermant que du sang frais sont donc des femelles qui n'ont piqué qu'une fois et tout récemment. Les femelles ne renfermant que du sang digéré sont donc des moustiques qui n'ont pas pu trouver leur dose normale de sang tous les jours. Cette donnée n'est exacte que pour des femelles non prêtes à la ponte, parce que ces dernières ne se nourrissent plus avant d'avoir évacué leurs œufs.

rencontrés au contact de différents types d'animaux de ferme ou de basse-cour :

I. PORCS. — 1<sup>o</sup> Etable renfermant 2 porcs, marais vendéen, entre Saint-Jean-de-Mont et le Perrier. Sur 18 Anophèles examinés, 17 ♀, dont 15 sont fraîchement gorgées de sang de porc; 2 ♀ prêtes à la ponte, non gorgées fraîchement. Proportion des ♀ fraîchement gorgées aux ♀ à jeun, 88 p. 100.

2<sup>o</sup> Petite étable renfermant une truie, Ferme du Pas-Opton, au voisinage des marais de la Vie. Sur 12 Anophèles examinés, 9 ♀, toutes gorgées de sang frais de porc (100 pour 100 de femelles gorgées).

3<sup>o</sup> Petite étable renfermant un jeune porc, à la ferme des Plantes près Saint-Hilaire-de-Riez. Une centaine d'Anophèles capturés. Proportion des femelles fraîchement gorgées variant de 90 à 95 pour 100.

II. BOVINS. — Etable à génisse (obs. E), 672 Anophèles capturés se dénombrant comme suit : ♂ 193 ♀ 577; fraîchement gorgées 229; ♀ à jeun ou non fraîchement gorgées, 348. Proportion des femelles gorgées aux femelles à jeun, 41 p. 100.

2<sup>o</sup> Etable à vaches (obs. F.). 42 Anophèles ♀ capturées, presque toutes abondamment gorgées. La proportion exacte n'a pas été retenue, mais elle est au moins voisine de 95 p. 100.

III. CHEVAUX. — 1<sup>o</sup> Ecurie renfermant 3 chevaux (obs. C.). 579 Anophèles capturés se dénombrant comme suit : ♂ 78, ♀ fraîchement gorgées 286; ♀ à jeun ou non fraîchement gorgées, 215. Proportion de femelles gorgées aux femelles à jeun, 57 p. 100.

IV. OVINS. — 1<sup>o</sup> Petite étable basse renfermant trois moutons, route de Saint-Jean-de-Mont. 408 Anophèles examinés se dénombrant comme suit : ♂ 206, ♀ fraîchement gorgées 82, ♀ à jeun ou non fraîchement gorgées, 120. Proportion des ♀ ayant pris du sang, 40,5 p. 100.

2<sup>o</sup> Petit abri à moutons (obs. B). Examiné 87 Anophèles : ♂ 13, ♀ fraîchement gorgées 33, ♀ à jeun ou non fraîchement gorgées 41. Proportion des femelles gorgées, 44,5 p. 100.

LAPINS. — Dans la cabane mentionnée à l'obs. C., plusieurs examens ont été faits après intervalles de plusieurs jours. Le tableau suivant les résume, montrant que la proportion des femelles gorgées allait de 70 à 85 p. 100.

DATES	NOMBRE D'ANOPHÈLES capturés				PROPORTION DE ♀ GORGÉES p. 100
		♂	♀ GORGÉES	♀ NON GORGÉES	
27 juin . . . .	115	15	70	30	70
30 — . . . .	103	10	86	10	89,5
6 juillet . . . .	175	14	137	24	85

VOLAILLES. — A. Poulailler (obs. A.). Nombreux Anophèles au voisinage des poules et des dindons. 6 examinés : 3 ♂, 3 ♀. Aucune des femelles n'est gorgée de sang d'oiseau.

B. Abri des oies (obs. B.). Sur 22 Anophèles examinés, 5 ♂, 17 ♀. Une seule est gorgée de sang; il s'agit de sang de mammifère. Aucune femelle n'est gorgée de sang d'oiseau.

C. Abri à poules (même localité). Sur 29 Anophèles examinés, 10 ♂, 19 ♀, toutes à jeun. Aucune femelle n'est gorgée de sang d'oiseau.

D. Poulailler (obs. C.) Sur 125 Anophèles examinés, on compte 63 ♂, 62 ♀. Sur ces 62 ♀, 13 seulement ont pris du sang, dont 5 du sang d'oiseau, les autres du sang de mammifère. La proportion des ♀ nourries sur les volailles est de 8,6 p. 100.

Il résulte de ces différentes observations que, d'une façon générale, tous les mammifères de la ferme, même les lapins, jouent dans l'alimentation sanguine des Anophèles un rôle incomparablement plus important que l'homme. La proportion des femelles largement nourries de sang à leurs dépens n'a pas été trouvée inférieure à 40 pour 100, chiffre minimum; elle dépasse souvent 90 p. 100. Par contre, comme l'avait bien observé Grassi, les volatiles de basse-cour ne sont piqués que d'une manière vraiment exceptionnelle. En ne tenant compte que de la quantité relative de moustiques qui se groupent autour d'un animal donné, par ordre de préférence, ce sont les bovins et les chevaux qui paraissent les plus recherchés, puis les porcs, les chèvres et les moutons, les lapins et, sans doute, exceptionnellement les chiens. (Aucune constatation sur ces animaux n'a été faite en Vendée. Voir plus loin dans la région parisienne.)

En fait, comme l'a dit Grassi, il ne paraît pas s'agir de préférences réelles, mais d'attraction plus ou moins puissante suivant les dimensions des hôtes. Les animaux qui attirent dans leur sphère d'influence le plus grand nombre d'Anophèles ne sont pas ceux sur lesquels les moustiques se gorgent le mieux et le plus volontiers. Les lapins, qui sont en général peu recherchés, seraient avec les porcs les animaux qui, proportionnellement à leur surface, nourrissent le plus abondamment et le plus complètement les femelles qui les visitent. Ceci tient à la faible densité du système pileux protecteur, pour les lapins sur les oreilles, pour les porcs sur le revêtement général du corps (1). Mais, bien que les lapins et les porcs constituent par suite, pour les femelles, des hôtes de choix, ce

(1) J'ai déjà insisté ailleurs sur l'importance d'une pilosité dense pour la protection des animaux contre les ectoparasites. C'est à cause de la nudité de leur épiderme que les porcs sont les animaux qui suppléent le plus facilement l'homme dans la nutrition de ses ectoparasites. Ce que nous avons déjà écrit au sujet des Auchmériomyies, des Glossines et de nombre d'Arthropodes piqueurs, est également vrai pour les Anophèles (V. *Bull. Soc. Path. exot.*, t. 9, 1916, p. 768).

ne sont pas eux qui jouent le plus grand rôle dans l'alimentation courante de la faune anophélienne en Vendée.

#### PROTECTION DU BÉTAIL PAR LE BÉTAIL.

Ainsi, les femelles choisissent suivant la taille des hôtes. Certains animaux de grande taille et d'émanations puissantes, en particulier les bovins, attirent à eux la majeure partie de la faune anophélienne, *protégeant* ainsi d'une façon très manifeste des animaux de moindre taille qui vivent dans leur voisinage immédiat ou cohabitent avec eux. Cette protection se vérifie même pour des animaux qui, s'ils se trouvaient isolés, subiraient de manière intense les atteintes des Anophèles. Les observations qui suivent sont très démonstratives à cet égard.

(Obs. F.). — A l'intérieur d'une étable renfermant deux vaches se trouve placée une cabane à lapins; en retrait, un âne est isolé dans un appentis communiquant librement avec l'étable des vaches. On note sur le plafonnement de l'étable, au-dessus des vaches, une *centaine* de femelles gorgées; au-dessus de la stalle de l'âne une dizaine environ; dans la cabane à lapins *aucun Anophèle*. Tous les moustiques examinés renfermaient du sang de vache. La présence de ces animaux a donc en grande partie protégé l'âne, et complètement les lapins.

Comme témoin de cette observation nous citerons le cas du lapin isolé (obs. C.) qui, éloigné d'une centaine de mètres des écuries, et placé en dehors de l'habitation, subissait par nuit la visite de plusieurs centaines d'Anophèles.

Bourrine de l'obs. B. — Des poules et des oies s'abritent dans le même appentis que des moutons. Aucun oiseau n'est piqué. Sur 87 Anophèles examinés, 31 montrent du sang de mouton, *aucun* du sang d'oiseau.

Écurie de l'obs. A. — Plus de 2.000 Anophèles par nuit sont attirés dans une écurie en présence d'un cheval et d'une génisse. L'étable à porc située vis-à-vis ne reçoit par contre qu'une centaine de moustiques. Il y a protection partielle, mais très sensible du porc.

Ces observations confirment bien ce que nous disons plus

haut, que ce ne sont pas toujours les animaux susceptibles de mieux nourrir les Anophèles qui sont les plus recherchés.

**INFLUENCE DE LA DENSITÉ ANOPHÉLIENNE SUR LES CONDITIONS D'ALIMENTATION SANGUINE. CONCURRENCE POUR L'ATTAQUE DES HOTES. MÉDOCRES CONDITIONS ALIMENTAIRES DES ANOPHÈLES DANS LES MARAIS VENDÉENS.**

L'observation attentive de la faune anophélienne qui peuple en Vendée les abris à bestiaux, permet une constatation importante : un hôte donné ne peut nourrir qu'une quantité limitée d'Anophèles, plus ou moins grande selon le volume et les facilités d'attaque de l'hôte.

Lorsque les moustiques ne sont pas excessivement nombreux au voisinage d'un hôte animal, le plus grand nombre, sinon la totalité, parviennent à se gorger de sang complètement; lorsqu'au contraire la faune anophélienne est très dense, tous les moustiques ne parviennent pas à s'alimenter, et nombre d'entre eux restent non gorgés. Ce fait, dont l'importance mérite d'être soulignée en raison des conséquences qu'il comporte pour l'homme, résulte apparemment de la concurrence qui s'exerce entre les Anophèles, pour la recherche des points vulnérables de l'hôte. Plus ce dernier se trouve protégé, soit par l'épaisseur de sa toison, soit par ses réactions naturelles, contre l'attaque des moustiques, plus la concurrence est intense. Et la portée de cette concurrence est encore accrue par la faible durée du temps d'activité des moustiques, qui, comme je l'ai dernièrement montré (1), ne dépasse pas quelques heures.

Il en résulte que dans les fermes situées en dehors des grandes surfaces marécageuses où, nous l'avons dit, les Anophèles ne se rencontrent qu'en nombre relativement restreint, souvent plus de 90 p. 100 des ♀ capturées dans les étables à bœufs sont trouvées amplement gorgées de sang (obs. F.); tandis qu'au contraire, dans la région des marais où la faune anophélienne est excessivement dense, la proportion des Anophèles nourris de sang, au voisinage des mêmes animaux est souvent infinitémoindre (obs. E. 41 p. 100).

(1) *C. R. Acad. des Sciences*, t. 167, 1918 p. 967.

Il est manifeste, par suite, que les conditions d'alimentation sanguine sont *moins favorables*, pour les Anophèles des grands marais vendéens où ces moustiques pullulent, que pour ceux des campagnes où les représentants de l'espèce ne sont pas en nombre excessif. On peut considérer qu'en moyenne, d'après l'ensemble des observations que nous avons pu faire, 45 p. 400 environ des Anophèles du marais vendéen ne peuvent satisfaire leurs besoins de sang journaliers : il y a donc un degré notable d'*insuffisance* dans l'alimentation sanguine des Anophèles de ce marais comparée à celle des Anophèles campagnards.

Mais la densité de la faune anophélique ne doit pas être interprétée comme l'unique facteur de cette insuffisance d'alimentation sanguine. D'après ce que nous venons de dire il faut comprendre aussi que l'insuffisance relative du bétail disponible en est la cause : il n'y a pas assez de bétail pour nourrir à la mesure de leur réel appétit de sang toutes les femelles d'Anophèles du marais. C'est qu'en effet, relativement rare est le bétail conservé pendant l'été dans les étables maraîchines. Dès la belle saison, les bovins sont mis en liberté dans les pâtures et passent leurs nuits en plein air ; les moutons errent plus ou moins librement au dehors : les abris à bestiaux ne renferment plus d'ordinaire qu'un nombre très restreint de jeunes animaux.

Lorsque les abris à bestiaux sont complètement vides de leurs occupants, le fumier et l'odeur particulière qui les imprègne n'en attirent pas moins pendant longtemps encore les Anophèles. On trouve alors, dans ces abris inoccupés, des femelles d'Anophèles en plus ou moins grand nombre, mais complètement à jeun. Ces femelles sont affamées et cherchent à piquer même en plein jour, si une occasion favorable (homme ou animal) vient à se présenter. C'est ce que j'ai constaté par exemple dans la bourrine de l'obs. B, où de nombreux Anophèles à jeun ont été observés dans une étable vide, antérieurement occupée par un âne et quelques vaches. Sur 29 moustiques examinés, 10 étaient des mâles, 19 des femelles dont aucune ne présentait de traces de sang. De même, dans l'appentis mentionné dans l'obs. D, qui lors de ma visite était également vide de tout bétail, une grande quantité d'Anophèles étaient visibles. Sur 64 moustiques capturés au hasard, on

relevait 23 ♂ et 41 ♀ dont aucune n'avait sucé de sang. Toutes ces femelles étaient manifestement en état d'inanition.

#### ANTAGONISME DU BÉTAIL ET DE L'HOMME DANS LA NUTRITION DES ANOPHÈLES. PROTECTION DE L'HOMME PAR LE BÉTAIL.

La préférence accordée au bétail par les Anophèles vendéens résulte d'une façon très nette de tout ce que nous venons de dire. L'homme ne constitue pour ces moustiques, au moins dans les conditions actuelles, qu'un hôte tout à fait secondaire et qui vient certainement en dernier rang, après tous les animaux que nous avons cités, les volailles exceptées. Nous avons tout lieu de croire qu'il s'agit là d'une protection analogue à celle que nous relations précédemment pour certains types d'animaux. Le bétail protège l'homme dans les limites de la concurrence et cette protection est d'autant plus parfaite que les conditions d'alimentation des Anophèles aux dépens des animaux domestiques sont plus satisfaisantes.

En effet, il ressort des investigations diverses que j'ai poursuivies dans les intérieurs vendéens, que là où les Anophèles sont trouvés abondamment gorgés de sang dans les étables, ils ne pénètrent pas, ou ne pénètrent qu'en très faible nombre au voisinage de l'homme (obs. A, obs. F); et inversement que là où les conditions d'alimentation sont médiocrement assurées par le bétail, on les trouve en plus grande quantité au voisinage de l'homme (obs. B, obs. D, obs. E, etc.).

Les demeures où les gens se plaignent le plus des moustiques sont toujours celles *dont les étables sont les plus pauvres en bétail*. C'est le cas pour la bourrine de l'obs. B, où, en dehors des volailles, seuls deux ou trois moutons font des apparitions irrégulières dans l'écurie. Sur l'ensemble des ♀ capturées dans les abris à bestiaux divers attenant à l'habitation, 55,6 p. 100 sont trouvées vides de sang. 19 Anophèles ont été recueillis au hasard dans la pièce d'habitation, notamment au-dessus des lits; un autre a été capturé, à l'entrée même de la demeure, dans un état d'épuisement et d'inanition très caractérisé. Aussi les occupants se plaignaient-ils d'être infestés par les moustiques et pour s'en défendre, au coucher du soleil pratiquaient la « chessée » qui consiste à les enfumer en

brûlant, du foin ou des roseaux humides. Cette pratique est si générale dans le marais que la plupart des maisons anciennes montrent à l'intérieur leur chaumage complètement noirci par la fumée.

Dans la bourrine de l'obs. E, une seule petite génisse détournait dans son abri de branchages *des milliers* d'Anophèles; aussi 41 p. 100 des femelles seulement y ont-elles été trouvées gorgées de sang: comme conséquence les habitants se plaignaient des moustiques, dont une vingtaine ont été capturés dans les chambres d'habitation.

Dans la maison neuve de l'obs. D, en dehors des volailles, aucun bétail n'était présent dans l'écurie dont la population anophélienne était complètement à jeun (0 p. 100 de femelles nourries de sang). Les habitants se plaignaient si violemment des moustiques qu'on m'avait immédiatement adressé à eux lors de mon enquête dans la localité. Pour éviter les Anophèles qui les assaillaient en masse vers le soir, ils en pratiquaient soigneusement la chasse dans la maison avant de s'endormir, et se calfeutraient au coucher du soleil. En fait, un petit nombre d'Anophèles seulement ont été rencontrés dans cet immeuble qui était remarquablement bien tenu.

L'habitation la plus avancée du village de Sainte-Lumine, aux abords du lac de Grandlieu, n'était pas protégée par du bétail, lors de ma visite. L'appentis en branchages servant d'écurie était vide. Aussi les occupants de l'immeuble se plaignaient-ils des Anophèles; ils avaient souffert des fièvres: dans le voisinage du lit une vingtaine d'Anophèles ont été observés.

Au contraire, dans les demeures paysannes où le bétail suffit largement à la population anophélienne, les occupants humains ne remarquent guère ces insectes. Ainsi, dans l'obs. A, de 70 à 80 p. 100 des Anophèles femelles trouvées dans l'écurie sont gorgées de sang; de 90 à 95 p. 100 de celles moins nombreuses qui fréquentent l'étable à porc sont abondamment nourries: les gens de la maison ne se plaignent que vaguement des moustiques et dans la pièce commune, lors de deux perquisitions successives, un seul Anophèle a pu être observé.

Dans l'obs. F, les gens ignorent complètement la présence des Anophèles: ils ne sont jamais piqués; or, dans l'étable qui fait

corps avec la pièce d'habitation et renferme deux vaches, une centaine de ♀ abondamment gorgées sont visibles. Une petite mare à larves nombreuses à côté de la maison entretient cette population anophélienne en permanence. Aucun moustique n'a été constaté, cependant, dans la pièce d'habitation.

Cette observation, très caractéristique, montre comment même en Vendée l'homme peut ignorer complètement la présence des Anophèles, alors que ceux-ci sont cependant présents en grand nombre dans son voisinage le plus immédiat. Ils passent inaperçus de lui, parce qu'ils sont assurés de trouver sur le bétail domestique une alimentation large et abondante. C'est exactement, nous le verrons, ce que l'on observe dans la région parisienne.

Ainsi, dans la région vendéenne deux cas : en dehors des grands marais, là où la faune anophélienne, d'une densité relativement faible, trouve suffisamment de bétail pour se nourrir, les relations de ces moustiques avec l'homme sont pour ainsi dire nulles ; dans la région des marais, au contraire, où la densité de la faune est particulièrement élevée, il existe des rapports incontestables de ces Anophèles avec l'homme. Ces rapports sont bien liés à l'insuffisance de nourriture sanguine offerte par le bétail, puisque dans les localités où on les observe avec le plus d'intensité, ils coïncident avec une proportion de femelles nourries de sang dans les écuries, inférieure à 45 p. 100. C'est un besoin de sang impérieux, qui pousse alors les Anophèles à franchir parfois le seuil des logis humains, pour y satisfaire leur appétit. Mais, même dans ce cas, on peut dire qu'ils ne le font qu'avec répugnance et sans satisfaire largement à leur faim.

## II

### LES CONDITIONS DE L'ANOPHÉLISME DANS LA RÉGION PARISIENNE

Il était intéressant de comparer les conditions éthologiques de l'*A. maculipennis*, dans la région parisienne, avec celles observées en Vendée. Grâce au précieux concours

de M. Guy Babault, qui a bien voulu mettre à ma disposition les ressources de son beau parc zoologique de Chatou et sa connaissance parfaite de cette localité ou des environs, j'ai pu trouver dans cette région tous les documents nécessaires à mes recherches (1). Comme on le verra, les constatations faites se superposent étroitement avec celles que nous avions pu faire dans la Vendée non maraîchine. Dans les deux cas, il s'agit essentiellement d'un *Anophélisme discret*, caractérisé par l'adaptation exclusive de l'*A. maculipennis* au bétail.

Bien que l'Anophèle existe partout, comme on sait, dans la région parisienne, il passe complètement inaperçu de l'homme. Et les mêmes causes produisent ici les mêmes effets. La présence de bétail, en suffisance pour les besoins normaux d'une population anophélienne peu dense, fait que cette population est entièrement adaptée aux animaux. Pour constater la présence des moustiques adultes, c'est en vain, le plus souvent, qu'on les recherchera dans les intérieurs humains. Il faut perquisitionner sur le plafonnement des écuries et des étables, au voisinage des bestiaux, pour les rencontrer avec une quasi-certitude.

Enfin, de même que dans la Vendée non maraîchine, les gîtes à larves étant constitués par des collections d'eau réduites, les larves d'*A. maculipennis* s'y pressent souvent en nombre considérable et sont toujours faciles à rencontrer. Malgré cette densité apparente de la population larvaire, celle des adultes reste limitée, en dépit d'une alimentation sanguine suffisante, précisément à cause de la faible étendue des lieux de développement.

Nos recherches ont été limitées pratiquement à la région Chatou-le-Pecq, mais elles ont été poursuivies dans des conditions absolument typiques qui permettent de généraliser sans crainte toutes les notions acquises. J'exposerai pour chacune des localités visitées l'ensemble des observations faites.

OBSERVATION I. — VILLA ET PARC ZOOLOGIQUE G. BABAUT. La villa est située au milieu du parc, qui comprend, sur une superficie de près d'un hectare, des cages de dimensions diverses pour animaux d'acclimatation et, sur une aile

(1) Je suis heureux de pouvoir exprimer ici, à mon excellent ami, M. Guy Babault, correspondant du Muséum, tous mes remerciements pour la collaboration si efficace qu'il a bien voulu apporter aux présentes recherches.

de bâtiment, des chambres réservées au personnel, des écuries et cabanes pour animaux domestiques. Deux petits gîtes à larves de *maculipennis* ont été découverts dans des abreuvoirs cimentés situés à environ 100 mètres du corps de bâtiment servant au personnel et aux animaux domestiqués. Or, malgré des perquisitions soigneuses, aucun Anophèle n'a été rencontré ni chez les animaux d'acclimatation (Antilopes, Cervidés), ni dans les pièces d'habitation du personnel, où cependant ont été capturés avec constance des *Culex pipiens*. Par contre, des *A. maculipennis* existaient dans l'écurie renfermant deux chevaux, qui est immédiatement attenante à la loge du portier. De plus, dans le prolongement de ce bâtiment, et à quelques mètres des chambres du personnel, se trouvent deux petites cabanes renfermant chacune un porc. Or, c'est dans ces cabanes qu'a été capturée la majorité des Anophèles dont le détail des captures est donné ci-après :

DATES	A. MACULIPENNIS ♂	A. MACULIPENNIS ♀
9 août . . . . .	1	15
10 — . . . . .	1	9
12 — . . . . .	1	8
13 — . . . . .	0	4
14 — . . . . .	0	6
16 — . . . . .	1	14
18 — . . . . .	0	3
19 — . . . . .	3	11
24 — . . . . .	2	3
26 — . . . . .	2	4

Au total, du 10 au 26 août, au cours de 9 visites soigneuses de cette petite porcherie, visites au cours desquelles toute la population anophélienne existante a été capturée et tuée, 88 *A. maculipennis* ont été recueillis, dont 77 ♀ pour 11 ♂. Le renouvellement incessant de la faunule anophélienne au voisinage d'un hôte donné est parfaitement net ici, comme nous l'avions également constaté en Vendée. La proportion des ♀ gorgées aux femelles à jeun, capturées dans le voisinage des porcs, dépassait 90 p. 100 (93,7 p. 100), indice évident d'une alimentation sanguine des plus satisfaisantes.

Des cages à lapins placées à côté des porcs n'ont jamais présenté d'Anophèles. Dans un local renfermant une portée de jeunes chiens, de nombreux *C. pipiens* ont été capturés, et, au cours de trois examens, seulement deux *A. maculipennis* ♀ non gorgées, ce qui démontre que ces animaux ne sont pas recherchés par l'Anophèle. Par contre, il convient de noter qu'à deux reprises différentes un *A. plumbeus* ♂ (*nigripes* Stäeg.) a été pris dans ce local, alors que cet Anophèle n'a été aperçu nulle part ailleurs.

Dans la villa elle-même, jamais, pendant le courant de l'été où ces observations ont été faites, on n'a pu constater la présence de l'*A. maculipennis*. Une seule fois, à la fin de l'hiver, le 23 février, M. G. Babault a capturé *dans la matinée*, un *maculipennis* ♀ cherchant à le piquer. Cette anomalie s'explique par l'inanition consécutive à l'hivernage. Elle rentre, comme nous le verrons plus loin, dans le cas général.

En résumé, dans cet établissement où régnait en quelque sorte un anophélisme latent, entretenu par des gîtes à larves, on peut constater d'une façon parfaitement typique la vérification des principes que nous énoncions plus haut : adaptation exclusive de la faunule locale aux animaux domestiques; suppression concomittante des rapports avec l'homme, la faunule anophélienne passant complètement inaperçue des habitants; protection du bétail par le bétail, les porcs et les chevaux protégeant les lapins et les chiens; malgré l'abondante nourriture animale enfin, développement restreint de la faune anophélienne, par suite de la faible étendue des gîtes à larves.

OBSERVATION II. — La ferme Charlemont, dans l'île de Chatou, a été visitée en détail. Les bâtiments sont situés à moins de 450 mètres de mares et de fossés remplis d'eau. Annexée à la maison d'habitation se trouve une étable renfermant une vache. Dans cette étable ont été capturées :

le 13 août 32 ♀ gorgées, 2 à jeun,  
le 14 août 20 ♀ gorgées,

soit une proportion de femelles largement nourries de sang, de 98 p. 100. En arrière de l'étable et communiquant avec elle, se trouve une écurie renfermant des chèvres et des lapins. Aucun Anophèle n'a été vu au voisinage de ces différents animaux, autrement dit la présence de la vache a complètement protégé les chèvres et les lapins. Aucun Anophèle non plus dans la niche du chien. Quant aux habitants de la ferme, ils n'ont jamais à souffrir de la présence des moustiques; ils ignorent leur existence à proximité immédiate de leur demeure. Ici encore, la protection humaine s'allie avec la parfaite alimentation de la faune anophélienne sur le bétail bovin.

OBSERVATION III. — La porcherie du Pecq comprend une douzaine de stalles basses renfermant des porcs, une étable contenant une dizaine de vaches, un cheval et des chèvres. Entre la porcherie et l'étable sont installés des lapins. La maison, occupée par le propriétaire et sa famille, se trouve à 10 mètres de l'étable. Enfin, à des distances respectives de 50 à 100 mètres en arrière de la porcherie, se trouvent deux pièces d'eau marécageuses. L'ensemble forme, par suite, un milieu biologique complet pour les anophelines.

En fait, les *A. maculipennis* ont été observés en très grand nombre dans

l'étable des vaches et du cheval, et dans les stalles des chèvres ; à peine moins abondants, au voisinage des porcs. Par contre, dans les stalles des lapins, manifestement protégés par les autres animaux, deux Anophèles seulement ont été aperçus. Quant à la maison d'habitation elle-même, elle n'est jamais visitée par les Anophèles : les occupants peuvent dormir l'été les fenêtres largement ouvertes, malgré le voisinage immédiat de toute cette population d'Anophèles.

Dans les écuries et les stalles, sur 96 *maculipennis* capturés au hasard, on note : ♂ 16, ♀ gorgées de sang 64, ♀ non gorgées 16, soit une proportion de femelles nourries de sang de 80 p. 100. Ici encore, la facile alimentation de cette faune anophélique sur le bétail explique son éloignement total du voisinage de l'homme.

En résumé, nous retrouvons donc aux environs de Paris la confirmation des faits biologiques précédemment étudiés en Vendée : l'homme est *protégé* contre les piqûres de l'*A. maculipennis* par le bétail qui l'entoure : le gros bétail draine à lui la grande majorité des ♀, et les petits animaux sont *protégés* par les autres. Moins nombreuse est la faune anophélique, ou plus abondant le bétail disponible, mieux se trouvent assurées les conditions d'alimentation des femelles, et par suite les conditions de protection de l'homme. Enfin, quelque abondant que soit le bétail disponible, la densité de la faune anophélique locale dépend essentiellement de l'étendue des gîtes à larves.

L'étude des conditions de vie de l'*A. maculipennis* aux environs de Paris montre ainsi qu'il n'y a pas de différences fondamentales, comme l'avaient admis Ed. et Et. Sergent, avec celles que ce moustique présente en Vendée. Le climat n'influe pas sur le caractère plus ou moins domestique de la faune. Partout l'Anophèle préfère le bétail ; il ne vient à l'homme que poussé par la nécessité et d'une façon tout à fait secondaire. On peut donc dire qu'en France, où le bétail domestique existe partout, les rapports alimentaires de l'Anophèle avec l'homme sont normalement disjoints.

### III

#### LES PARTICULARITÉS BIOLOGIQUES DE L'*A. MACULIPENNIS* . CONDITIONS DES RAPPORTS AVEC LES HOTES

Il ne suffit pas de constater la préférence accordée au bétail par l'*A. maculipennis* pour bien se faire une idée du rôle pos-

sible joué par l'Anophèle dans la transmission effective du paludisme. Il importe encore de préciser les conditions fort mal connues de son activité à l'état adulte, et notamment d'étudier dans quelles circonstances se manifestent ses relations habituelles de nutrition avec les hôtes, hommes ou animaux. C'est ce que je vais tenter d'exposer d'après les investigations diverses que j'ai poursuivies sur la question.

#### HEURES D'ACTIVITÉ. PÉRIODISME.

A voir, au toit des étables, des légions d'Anophèles gorgés, en état d'immobilité complète pendant toute la durée du jour, on serait tenté de considérer ces insectes comme essentiellement sédentaires. Il n'en est rien. J'ai montré précédemment (1) qu'en captivité l'*A. maculipennis* obéit à des lois très curieusement précises, de réveil rythmique crépusculaire. Au repos tout le jour, il entre brusquement en état de vol lorsque finit le jour et que commence la nuit, toujours sensiblement à la même heure pour un même éclairement. Il faut voir dans le déclanchement si singulièrement réglé de cette brusque activité rythmique, le résultat de l'intervention complexe de facteurs antagonistes, les uns d'action physiologique, les autres d'inhibition.

Dans la nature, l'Anophèle obéit aux mêmes lois d'activité physiologique. Au repos tout le jour, son vol se déclanche brusquement à la nuit. Toute la population anophélienne d'un local donné entre en activité sensiblement au même moment. Ainsi, j'ai fait, le 4<sup>e</sup> juin, dans le marais vendéen, l'observation suivante : à 20 h. 30, le soleil étant déjà très bas sur l'horizon mais encore visible, les Anophèles sont encore tous immobiles dans les différents locaux où ils se tiennent. Toutes les cinq minutes environ, un coup d'œil est donné dans ces locaux. L'immobilité est complète jusqu'à 21 h. 30. A partir de ce moment commence le départ : on voit les moustiques quitter les abris et s'envoler au dehors. A 21 h. 3/4 le filet promené le long des surfaces intérieures des abris, qui renfermaient précédemment des centaines d'Anophèles, n'en ramène plus : toute la popula-

(1) Rythmes physiologiques et vol spontané chez l'*A. maculipennis*. C. R. Acad. des Sciences, t. 167, 1918.

tion anophélienne est entrée en activité de vol, même les femelles qui se sont fortement gorgées de sang la nuit précédente. A 22 h. 30 les Anophèles ne sont point encore revenus à leur position de repos.

La durée de l'activité périodique ne doit pas normalement dépasser les deux premières heures de nuit. Mais je n'ai point d'observations précises touchant l'heure de rentrée et d'immobilisation dans les abris. En Italie, Grassi a noté en juillet que les Anophèles piquaient de 21 h. 30 à 2 heures et de 4 à 6 heures. J'ai, en effet, constaté en Vendée le vol à l'aube, avant 6 heures.

#### RÉNOVATION JOURNALIÈRE DE LA FAUNE ANOPHÉLIENNE AU VOISINAGE DES HÔTES.

Il résulte de ce que nous venons de dire que les Anophèles ne s'installent pas à demeure dans les écuries ou les maisons où ils trouvent leur nourriture : chaque nuit, aux premiers moments de l'obscurité, l'activité rythmique du vol crépusculaire entraîne au dehors les mâles comme les femelles. Même si les conditions d'alimentation les plus favorables sont réalisées dans les locaux où celles-ci ont passé leur période d'inhibition diurne, elles les abandonnent pour voler librement au dehors. Il leur faut ensuite, lorsque revient la période d'inhibition, retrouver de nouveaux hôtes pour se nourrir avant de s'immobiliser à nouveau. C'est donc un renouvellement plus ou moins total de la population anophélienne, qui se produit chaque nuit au voisinage des hôtes, et cela indépendamment du bien-être relatif de cette population.

Nous avons déjà cité plusieurs exemples montrant que si l'on capture et détruit plusieurs fois de suite tous les Anophèles d'un local convenablement isolé, où la nutrition sanguine est bien assurée, cette population répare constamment ses pertes, à tel point que la faune de moustiques qui peuple ce local ne paraît point modifiée. C'est le cas pour la cabane à lapin de l'observation C, ou de la porcherie de l'observation I.

Si le nombre des hôtes favorables est peu élevé, dans un district donné, il est vraisemblable qu'au cours de leurs migrations périodiques crépusculaires les Anophèles doivent réapparaître, à intervalles plus ou moins fréquents, dans les mêmes

locaux. On peut, d'autre part, constater expérimentalement que la faune anophélienne d'un local donné, si abondante soit-elle, se renouvelle intégralement au bout de quelques jours. L'expérience suivante, qui a été faite dans une ferme isolée du marais vendéen, distante d'au moins 100 mètres des autres habitations, et très démonstrative à cet égard.

Dans une étable renfermant plus de 2.000 Anophèles, un millier environ de ces moustiques, ♂ ou ♀, ont été marqués par le procédé des pulvérisations colorées de Griffiths. Au bout de dix jours, 1.687 *A. maculipennis* ont été de nouveau capturés dans ce local et soumis à l'épreuve de l'alcool. Aucun des Anophèles teintés n'a été retrouvé. La même expérience a été renouvelée, en collaboration avec M. G. Babault, dans l'île de Chatou, sur une vingtaine d'Anophèles, avec les mêmes résultats.

Ces observations diverses prouvent que, loin de vivre sédentaires et de s'installer en permanence dans la demeure d'un hôte qui les nourrit, les Anophèles se partagent librement, chaque nuit, dans un rayon probablement très large, les différents hôtes favorables qu'ils rencontrent au hasard de leur vol périodique. Au cours d'expériences réalisées à Chatou avec M. G. Babault, nous avons d'ailleurs reconnu directement que ce vol libre au dehors est absolument indispensable à la vie normale des *A. maculipennis*. Dans trois locaux différents, suffisamment vastes et dont les orifices avaient été soigneusement obturés par de la mousseline, des lots d'une vingtaine d'Anophèles ont été lâchés. Chaque nuit, pour servir à la nourriture des Anophèles, on parquait dans ces locaux des chiens, des poules, une génisse. De l'eau était également placée en permanence à l'intérieur des locaux. Quels que soient les hôtes choisis, au bout d'une dizaine de jours on ne retrouvait plus en vie, au maximum, qu'un ou deux Anophèles.

Cette absence de survie des femelles nourries de sang, confinées dans un local clos, même vaste, démontre la nécessité absolue pour ces moustiques d'une période de vol à l'extérieur, pendant leur phase d'activité périodique. Ainsi se trouvent infirmées d'avance les expériences sur la nutrition des *A. maculipennis*, pratiquées dans un local clos comme celles de Celli et Gasperini.

Etant donnée cette dispersion journalière de la population

anophélienne, des locaux habités, au dehors, il est très remarquable de constater, d'autre part, la constance avec laquelle un hôte donné se retrouve entouré d'Anophèles, chaque nuit à peu près dans les mêmes proportions. Pour le lapin déjà cité de l'obs. C, c'est très sensiblement 200 Anophèles qui, à chaque observation, pouvaient être aperçus et capturés dans la même stalle. Il semble que le partage des hôtes se fasse chaque nuit d'une manière à peu près semblable, selon des lois assez obscures, mais en particulier évidemment régi par le degré d'attraction que chacun des hôtes exerce sur l'ensemble de la faune, et aussi par la concurrence.

#### RECHERCHE ET SÉLECTION DES ABRIS POUR LA NUTRITION SANGUINE. IMPORTANCE DE LA NATURE DE L'ABRI.

L'*A. maculipennis*, au contraire de l'*A. bifurcatus*, ne pique pas volontiers à l'extérieur.

Le nombre des femelles que l'on peut surprendre autour de soi, à la nuit, même aux portes des habitations, est infime. De même, en promenant le filet autour des animaux (génisses, chevaux) paissant au voisinage d'écuries infestées de moustiques, je n'ai guère pu capturer qu'une ou deux ♀ isolées et à jeun, de cette espèce Anophélienne. Je ne saurais même affirmer que ces Anophèles cherchaient positivement à piquer, parce qu'à la même heure on peut également surprendre, ça et là, au niveau du sol, des Anophèles accomplissant leur vol périodique au dehors.

Les preuves abondent, au contraire, que l'*A. maculipennis* pique d'une façon remarquablement active à l'intérieur des abris (maisons ou écuries) où se tiennent les hôtes et qu'il s'immobilise aux parois de l'abri, aussitôt après la piqûre, sans quitter les abords immédiats de l'hôte qui l'a nourri. J'ai déjà cité, à l'appui du fait, le cas si démonstratif du lapin de l'obs. C., dont la stalle était constamment occupée par près de 200 Anophèles gorgés, tandis que la stalle voisine, séparée par un simple grillage à larges mailles, le même qui permettait l'entrée des Anophèles, était toujours absolument vide.

Ainsi, l'*A. maculipennis* quitte à la nuit tombante les abris pour le plein air, et, au bout d'un certain temps, lorsqu'il a

accompli son vol périodique obligatoire, rentre à nouveau à l'intérieur des abris; avant de s'immobiliser jusqu'à la nuit suivante, les femelles se gorgent de sang, si elles en trouvent la possibilité.

Le choix des abris par les femelles est le plus souvent conditionné par la présence et la nature des hôtes; mais le fait n'est pas toujours vrai. Il semble aussi que, dans certains cas, ce soit la nature de l'abri qui conditionne la recherche des hôtes pour l'alimentation. Ainsi, j'ai pu observer, aussi bien dans la région vendéenne que dans les environs de Paris, que le cubage des étables influait beaucoup sur l'abondance relative des Anophèles. Nombreux dans les locaux à plafond bas ou peu élevé, ils sont beaucoup moins abondants, en règle générale, dans les étables vastes et à haute toiture. Il arrive souvent de ne pas rencontrer du tout d'Anophèles gorgés dans les bâtiments bien aérés des grandes fermes, dont les murs sont nus et le plafonnement élevé, alors qu'ils pullulent dans des écuries basses. Il semble que si la hauteur absolue des locaux où s'abritent les bestiaux dépasse 6 à 8 mètres par exemple, ces locaux ne conviennent plus à l'Anophèle pour se nourrir et s'y fixer. Dans ce cas, les hôtes qui occupent les locaux se trouvent vraisemblablement protégés contre les piqûres, à peu près dans les mêmes conditions que s'ils se trouvaient à l'extérieur.

Indépendamment de la hauteur du plafonnement, la propreté et la blancheur des muraillages, l'absence de recoins obscurs influent aussi beaucoup sur la présence des Anophèles. Et l'on peut supposer, avec certains auteurs, que cet ensemble de raisons contribue beaucoup, par suite, à les écarter des habitations humaines et à diminuer encore les rapports de ces moustiques avec l'homme.

#### CONDITION D'EFFICIENCE DES HOTES.

Il résulte de ce qui précède que l'abondance des hôtes susceptibles de subvenir à la nutrition de l'*A. maculipennis*, dans une localité donnée, ne suffit pas pour garantir à la faune anophélienne de cette localité une nutrition sanguine suffisante. Il faut non seulement qu'il y ait des hôtes, mais encore que ces hôtes se trouvent placés dans des conditions qui permettent aux Ano-

phèles de rechercher sur eux leur nourriture. Il faut qu'à la périodicité relativement courte du vol périodique, ces hôtes se trouvent eux-mêmes en inactivité, au repos, dans des abris de faible hauteur et de faibles dimensions. Tous les hôtes, si nombreux soient-ils, qui, à la périodicité de vol des Anophèles, se trouvent en dehors des abris, ne concourent pas à la nutrition sanguine effective de la faune : tout se passera, par suite, comme si ces hôtes n'existaient pas.

En fait, nous avons vu que dans les marais vendéens où le bétail existe en abondance très grande, la population anophélienne n'est cependant pas nourrie suivant ses besoins, parce qu'au cours de la saison chaude la très grande majorité des bestiaux passent les nuits dans les prés-marais, et ne réintègrent pas les abris. Le petit nombre d'animaux qui passent les nuits dans les étables ne suffit pas complètement aux besoins de sang des Anophèles, et une partie de ceux-ci cherchent à se satisfaire aux dépens de l'homme.

Pour être réellement *efficients*, c'est-à-dire pour jouer un rôle protecteur vis-à-vis de l'homme en détournant sur eux les piqûres des femelles, les animaux doivent donc être maintenus la nuit dans les étables. Ne sont pas *efficients*, au point de vue qui nous occupe, ceux qui sont parqués en plein air.

Examinée à la lumière de ces données biologiques, la question de l'antipaludisme s'éclaire d'un jour nouveau sur lequel nous allons maintenant nous étendre avec quelques détails.

## IV

### LE BÉTAIL ET L'ANTIPALUDISME EN EUROPE. PRINCIPES DE PROPHYLAXIE ANIMALE DU PALUDISME

Les observations que nous avons comparativement poursuivies en Vendée et aux environs de Paris montrent qu'il n'y a pas de différences essentielles dans les habitudes de l'*A. maculipennis* suivant ces deux régions. Nous constatons, dans les deux cas, la préférence absolue de l'Anophèle pour le bétail. Il n'en demeure pas moins un fait indiscutable qui avait nettement frappé autrefois Ed. et Et. Sergent, comme nous l'avons

dit : c'est que, dans la Vendée maraîchine, où le paludisme est considéré comme encore existant, l'*A. maculipennis* présente quelques rapports manifestes avec l'homme, tandis qu'il n'en présente pas normalement dans la région parisienne, où il n'y a pas de paludisme.

Cette différence apparente s'éclaire parfaitement lorsqu'on étudie de près les conditions d'alimentation sanguine de la faune anophélienne.

**L'ALIMENTATION NORMALE DES ANOPHÈLES PAR LES BESTIAUX.  
SON IMPORTANCE POUR L'HOMME.**

Nous avons constaté, dans les grands marais vendéens, que plus de 50 p. 100 en moyenne, souvent plus des deux tiers des femelles d'Anophèles, prises au voisinage des bestiaux, ne sont pas nourries à leur faim ; les conditions imparfaites de leur nutrition sur le bétail obligent, par suite, un certain nombre de femelles à rechercher leur nourriture sur l'homme. Dans la région parisienne, au contraire, où plus de 80 p. 100 des femelles, d'après nos observations, peuvent largement se nourrir sur les bestiaux, où 5 à 10 p. 100 à peine ne sont pas trouvées gorgées de sang, les rapports de ces moustiques avec l'homme sont absolument exceptionnels. On en peut donc conclure en toute certitude que, là où la faune anophélienne peut trouver sur les bestiaux une alimentation sanguine *normale*, cette faune passe absolument inaperçue des humains.

C'est parce que le bétail suffit habituellement aux besoins de sang de l'*A. maculipennis*, dans nos régions, que cet Anophèle y pique si rarement l'homme, à tel point que beaucoup d'observateurs qualifiés ont pu ignorer ses habitudes hémophages. C'est pour la même raison, que les Anophèles des chaumières italiennes, suivant la motion de Celli que nous relations au début de ce travail, piquent davantage l'homme que ceux des étables. C'est enfin, pour la même raison, que règne dans la majeure partie de l'Europe, ce singulier état latent, jusqu'alors à peu près inexpliqué, d'*Anophélisme sans paludisme*.

Il faut entendre, en effet, que l'absence de manifestations palustres chez l'homme, malgré la présence des Anophèles,

est liée à la protection exercée par le bétail à son égard. Cette protection, d'autre part, n'offre pas une valeur constante. Elle résulte, en fait, d'un état d'équilibre entre les besoins de la population des Anophèles, et les ressources en hôtes de la région. Elle n'est complète que si la balance entre les appétits et les ressources est satisfaite.

L'état de nutrition normale des Anophèles aux dépens des bestiaux constitue un facteur important à connaître au point de vue antipaludique, encore qu'il ne paraisse point avoir convenablement attiré l'attention jusqu'ici. C'est cependant de ce facteur que dépend, dans l'Europe agricole, l'immunité plus ou moins complète des populations à l'égard du paludisme. Il est facile de s'en rendre compte par ce que nous avons constaté en France. Nous avons fait voir, en effet, comment dans la Vendée maraîchine, les habitations dont les gens ont le plus à souffrir des Anophèles sont celles où le bétail fait défaut. Le fait est parfaitement net dans cette région des marais de Vendée, en raison de l'isolement complet où se trouvent placées les habitations diverses, les unes par rapport aux autres.

Une autre preuve, non moins caractéristique, de ce que l'attaque de l'homme par l'Anophèle résulte d'une insuffisance dans les conditions usuelles d'alimentation sur les animaux, peut être tirée de l'observation suivante : dans les régions éloignées des grands marais où, pendant le courant de l'année l'homme n'est, pour ainsi dire, jamais piqué par l'*A. maculipennis*, c'est à la fin de l'hiver ou au premier printemps qu'on peut le plus souvent constater des dérogations à cette règle. Nous avons déjà relevé le fait pour les environs de Paris (obs. I : Anophèle piquant dans une pièce le 29 février). Dans la liste des captures anophéliennes en Angleterre donnée par Lang (1), nous notons également à différentes reprises des ♀ piquant dans les maisons en février, mars, avril, alors que pour le reste de l'année on ne signale que très rarement le fait (obs. 17, p. 9 ; obs. 334, p. 27 ; obs. 344, p. 29). C'est qu'il s'agit alors de femelles affamées par une longue hibernation, et dont les besoins de sang devenus impérieux les portent à s'attaquer

(1) *Loc. cit.*

au premier hôte qui se présente. Ultérieurement, lorsque les conditions d'alimentation sont redevenues normales et régulières, assurées par la présence du bétail, l'homme cesse d'être inquiété.

La protection humaine ne résulte pas seulement de la plus ou moins grande abondance relative du bétail *efficient*; elle dépend aussi, nous l'avons dit, de l'abondance plus ou moins grande des Anophèles. Les deux termes doivent varier dans le même sens pour que l'équilibre soit maintenu. Plus les Anophèles sont abondants dans une région donnée, plus il leur faut de bétail pour se nourrir, autrement, en raison de la concurrence, ils attaquent l'homme : telle est la formule simple en laquelle nous paraît se résumer la question. Or, nous savons que la plus ou moins grande abondance de nourriture sanguine n'influe pas sensiblement à elle seule sur le développement de la faune anophélienne. La nourriture sanguine offerte par le bétail peut être très large, si les gîtes à larves sont peu nombreux et d'étendue restreinte, la population anophélienne locale restera clairsemée.

C'est là une constatation importante sur laquelle on doit insister, parce que l'on a souvent tendance à considérer précisément le rôle du bétail comme préjudiciable dans la lutte antipaludique : certains auteurs estiment que les animaux jouent un rôle nuisible, en permettant une multiplication exagérée des Anophèles. L'observation montre cependant qu'il n'en est rien. Dans la Vendée maraîchine, où la faune anophélienne n'est pas nourrie à sa faim, cette faune est excessivement dense; elle l'est, au contraire, incomparablement moins dans les environs de Paris, où les conditions d'alimentation sur le bétail se trouvent pour elle beaucoup meilleures.

La nourriture sanguine offerte aux adultes se trouve-t-elle relativement réduite, la population anophélienne locale n'en sera pas moins dense, si elle trouve à sa convenance des gîtes à larves de vaste étendue. Ce sont donc les gîtes de développement larvaire qui constituent le régulateur fondamental du développement anophélien. Là où existent de grandes surfaces d'eau propices aux larves, on verra se développer de grandes quantités d'Anophèles, même si la nourriture sanguine est parcimonieusement mesurée aux femelles. C'est là un fait qu'il faut bien comprendre, et qu'il est facile de s'expliquer, puisque la

nourriture sanguine n'est pas, par elle-même, indispensable aux femelles. Elle n'est nécessaire que pour la ponte et les femelles sauront toujours se procurer du sang si leur descendance est menacée. La rareté des hôtes ne contribuera qu'à une réduction relative dans l'activité reproductrice, largement compensée d'autre part, par les facilités de développement offertes aux larves.

Lorsque la nourriture sanguine est abondante, les femelles *choisisSENT* leurs hôtes; dans ce cas, nous l'avons vu, leurs préférences vont nettement aux animaux. Mais lorsque les besoins de sang sont pressants, par suite de la rareté des hôtes ou de la densité même de la faune anophélien, le *choix* devient de plus en plus restreint; l'homme est alors mis à contribution, ainsi que les hôtes ordinairement délaissés, tels que les volatiles de basse-cour.

Des épidémies palustres, conséquences d'une fréquence anormale dans les relations nutritives de l'*A. maculipennis* avec l'homme, peuvent éclater soudain dans une région pourvue de bestiaux par le simple fait de l'accroissement des gîtes à larves dû aux inondations, qui entraînent un développement exagéré de la population anophélien et par suite une concurrence alimentaire plus grande. Nous en avons trouvé des preuves en Vendée même. Le village de la Gachère, situé à l'embouchure de l'Auzance et de la Veronne dans la région des Sables, a été le théâtre de grandes épidémies palustres antérieurement à 1893. Les fièvres atteignaient 95 p. 100 de la population d'après les relations locales. Or elles ont coïncidé avec l'obstruction du chenal qui conduisait à la mer les eaux des deux rivières, et avec les inondations subséquentes. En 1893 des travaux ont permis de rétablir ce chenal et de transformer en marais salants les zones d'inondation. Le paludisme a disparu sans que les conditions de vie des paysans ni celles de leur bétail aient été modifiées. Il faut admettre qu'à l'heure actuelle la quantité de bétail *efficient* est suffisante pour assurer la protection humaine, alors qu'elle ne l'était plus à l'époque des grandes inondations, par suite de l'excessive abondance des Anophèles. La préservation de l'homme contre le paludisme résulte certainement ici de l'équilibre entre la densité des moustiques et celle du bétail *efficient*.

L'introduction de groupements humains pauvres en bétail dans une zone marécageuse, jusqu'alors inhabitée, peut ramener des conditions favorables à l'éclosion de nouveaux foyers palustres : là où la population anophélienne n'est pas *régulièrement* alimentée de sang par ses hôtes de préférence, elle doit utiliser, pour s'en procurer, toutes les occasions favorables, et se nourrir abondamment sur l'homme s'il vient à sa portée. Ainsi ont pris naissance, durant la guerre, les divers petits foyers de paludisme autochtone qui ont été signalés, toujours dans des régions vierges de bestiaux.

C'est également la raison pour laquelle, dans les polders des Flandres, de Hollande, de Vendée, l'utilisation par l'homme de ces terrains bas conquis sur la mer s'est accompagnée, au début, d'une large extension de l'affection palustre.

Mais dans des régions ouvertes d'une façon définitive à la vie agricole et pastorale, l'abondance de plus en plus grande des bestiaux a progressivement réalisé la protection humaine, en suscitant la possibilité du choix dans l'alimentation des Anophèles et permettant l'orientation de l'ensemble de la faune vers des hôtes plus facilement accessibles que l'homme. On conçoit qu'une telle évolution n'ait pu se faire que lentement et progressivement, au fur et à mesure que se sont trouvés modifiés par le travail humain les différents facteurs qui la définissent : réduction des gîtes à larves par le travail des marais, augmentation simultanée du bétail protecteur.

Or c'est bien en effet ce que l'on constate : en France, comme en Angleterre, en Flandre, en Hollande, en Italie, la régression de l'endémie palustre s'est faite d'une façon pour ainsi dire insensible, concurremment avec les progrès de la mise en valeur des grandes zones marécageuses. Mais cette régression spontanée du paludisme, si nette dans les terres basses de la Vendée, comme dans les polders des Flandres et de Hollande, les marais de Toscane, dérive aussi pour nous, incontestablement, d'une évolution des goûts de l'Anophèle, évolution dans laquelle les animaux ont pris la place de l'homme (évolution zoophile).

Si l'homme, par son action directe sur les zones marécageuse, par leur mise en valeur accompagnée de la multiplication autour de lui des bestiaux, a été le premier agent, incon-

scient, de cette évolution, la nature et les lois de la biologie ont fait le reste.

Il semble bien, en effet, qu'on soit en droit de parler ici d'une évolution lente et durable des habitudes alimentaires de l'Anophèle, c'est-à-dire d'une *évolution d'habitudes acquises*. Au fur et à mesure que le moustique a pu davantage se nourrir régulièrement de sang aux dépens des animaux, son goût pour ces derniers n'a cessé de se préciser et de s'affirmer, tandis qu'en revanche il marquait une répulsion de plus en plus grande pour le sang humain. Nous trouvons, en faveur de cette conception, plusieurs faits très suggestifs.

Tout d'abord, il est incontestable qu'en France, pour ne parler que des régions connues de nous, l'*A. maculipennis* évite, nous l'avons vu à l'*extrême*, de piquer l'homme. Nous avons déjà montré que la proportion des Anophèles gorgés de sang humain, même dans les habitations, est infime. On peut, à l'heure du réveil des moustiques, séjourner dans des locaux infestés d'Anophèles, alors même qu'une partie de ceux-ci ne sont pas alimentés de sang, sans être aucunement inquiété par eux. Le voyageur qui passe à la nuit tombée, au seuil des demeures maraîchines, en Vendée, ignore absolument, nous l'avons dit, qu'autour de lui voltigent par milliers les Anophèles. On peut donc parler à coup sûr d'une *répugnance* réelle à l'égard de l'espèce humaine, manifestée par les moustiques dans nos régions.

Pareille répugnance n'est certainement pas *primitive* : tout ce qu'on sait du cycle malarien, si exclusif de l'homme à l'Anophèle, et inversement ne parle pas en cette faveur. Il faut concevoir au contraire le type d'évolution des parasites, auxquels l'*A. maculipennis* est si remarquablement sensible, comme le témoin des relations autrefois habituelles du moustique avec l'homme. Dans les pays vraiment palustres, d'ailleurs, régions insalubres de l'Italie d'après Grassi, côte orientale de Corse, Algérie, Maroc, Orient, etc., l'*A. maculipennis* est loin d'éviter l'homme. On le rencontre couramment, gorgé de sang, dans les habitations et les campements.

C'est par centaines que M. Léger (1) capture le moustique

(1) *Le paludisme en Corse*. Laval, Barnéoud, 1913, p. 41-42.

dans les maisons et les gares en Corse impaludée, que Delanoë recueille l'*A. maculipennis* dans sa tente et celle de ses infirmiers, au Douar Maachat, dans le Maroc occidental (1). On pourrait donc dire qu'il existe deux races physiologiques d'*A. maculipennis*, l'une, celle des régions palustres, qui continue à rechercher l'homme, ayant conservé les habitudes primitives, l'autre des régions non palustres, qui a secondairement et plus ou moins définitivement orienté ses habitudes hémophages vers le bétail:

L'adaptation secondaire de l'Anophèle aux bestiaux, dans les pays favorisés par des ressources en bétail vraiment domestique, a, semble-t-il, en effet, provoqué la genèse d'une race particulière, qui se distingue non seulement par ses goûts et ses affinités zoophiles, mais aussi par des différences dans la taille. Les *A. maculipennis* de France, remarquent les Sergeant (2), « sont d'une taille un peu supérieure à celle des *A. maculipennis* d'Algérie ou d'Italie, alors que ceux du lac de Grandlieu sont exactement semblables à ceux de la banlieue de Paris ou de la vallée de l'Essonne ». Il n'est pas exagéré de penser que ces différences morphologiques sont la conséquence directe de l'alimentation large et facile de notre race anophélienne sur les animaux.

Les modifications physiologiques de l'Anophèle en Europe non palustre, qui se traduisent par une affinité toute particulière pour les hôtes-animaux (race zoophile), sont suffisamment accusées pour que l'homme, normalement, ignore la présence du moustique autour de lui. Toutefois, les habitudes trophiques de la race ne sont pas rigoureusement fixées encore, puisqu'elles sont susceptibles d'une certaine réversibilité lorsque le bétail fait défaut. L'Anophèle alors revient à l'homme, et c'est ainsi que se manifestent les retours d'épidémie palustre. Dans les conditions actuelles de l'Europe, il faut considérer cette menace comme tout à fait secondaire. D'ailleurs les causes en étant connues, il sera facile d'éteindre, à leur source même, les réveils locaux d'infection.

La constitution, dans l'Europe agricole, d'une race d'*A. macu-*

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. 10, 11 juillet 1917, p. 606.

(2) *Loc. cit.*, p. 63.

*lipennis*, essentiellement adaptée au bétail, a permis, pour le plus grand bien de l'espèce humaine, la disjonction des rapports habituels de l'Anophèle avec l'homme. Cette variation physiologique n'a pas influé, d'autre part, nous l'avons vu, sur la réceptivité de la race anophélienne à l'égard de l'infection malarienne. Aussi la possibilité d'infection des Anophèles subsiste-t-elle entière. Mais pratiquement, au point de vue humain, le résultat favorable n'en a pas moins été acquis, puisqu'en modifiant leurs habitudes de nutrition primitives aux dépens de l'homme, les Anophèles des régions à bestiaux ont brisé le cycle fermé des parasites malariens.

#### L'ÉDUCATION TROPHIQUE DES ANOPHÉLINES ET LA PROPHYLAXIE ANTI PALUDIQUE.

Il résulte de ce que nous venons de dire que, spontanément, dans les régions d'Europe où le bétail a été placé dans des conditions d'efficience satisfaisantes et rendu ainsi capable d'assurer *per se* l'alimentation normale de la faune anophélienne, l'*A. maculipennis* a cessé plus ou moins entièrement ses rapports de nutrition sanguine avec l'homme. Il en est résulté, pour ce dernier, une protection antipaludique plus ou moins parfaite, et par suite l'avènement, en dernière analyse, d'un état latent d'*Anophélisme sans paludisme*, qui domine aujourd'hui dans la majeure partie de l'Europe.

Partout où la faune anophélienne a pu se nourrir régulièrement aux dépens des animaux, le cycle des parasites malariens s'est trouvé rompu et le paludisme suspendu dans ses manifestations d'endémicité. Ainsi s'est réalisée, dans la nature, une expérience spontanée de large envergure et dont l'interprétation nous paraît singulièrement instructive pour l'histoire de l'antipaludisme.

On voit tout de suite se préciser la question : n'est-il pas possible de reprendre semblable expérience en pays palustre et d'y organiser rationnellement ce que j'appellerai la prophylaxie animale du paludisme ? Tout permet de penser que cette nouvelle méthode prophylactique est, en effet, ouverte à un avenir intéressant. Mais il est nécessaire d'en bien préciser les termes, afin de savoir exactement ce qu'il est permis de lui

demander et dans quelles conditions elle est capable d'intervenir d'une manière efficace.

La Prophylaxie par le bétail, comme on peut le penser d'après ce que nous avons dit au cours de cette étude, ne doit pas simplement consister à introduire au voisinage des habitations humaines un rideau protecteur animal, purement local et plus ou moins temporaire. Pour que cette protection soit efficace et arrive à transformer *per se* d'une façon complète la nosologie palustre d'une région, il faut qu'elle s'appuie sur la sélection durable des habitudes alimentaires anophéliennes. Le but à atteindre est donc biologiquement d'un ordre assez élevé : il consistera à réaliser l'*éducation trophique* de la faune anophélienne, en l'orientant d'une façon permanente et stable vers la population animale efficiente, de manière à développer les préférences des moustiques pour le bétail, et à les amener à une indifférence de plus en plus complète à l'égard de l'espèce humaine. Il s'agit, en somme, de tenter la genèse de *races zoophiles* anophéliennes, telles que nous en avons constaté la réalisation en Europe, dans les conditions naturelles.

L'un des principaux facteurs de cette éducation trophique des Anophèles, résidera donc dans la *stabilité* des hôtes de suppléance offerts aux Anophèles. Il faut que l'alimentation sanguine d'origine animale soit assurée en permanence à ces derniers pendant toute la saison d'activité, et sensiblement toujours dans les mêmes conditions. Le deuxième grand facteur dont il faudra tenir compte, est la *durée* ; la stabilisation des habitudes acquises nécessitant avant tout la répétition constante du même mode alimentaire au cours des temps.

Il convient aussi de rappeler que le grand régulateur des appétits et des besoins nourriciers de la faune anophélienne réside avant tout dans l'étendue et l'importance des lieux de développement, qui constituent le principal facteur de la densité plus ou moins grande de cette faune. Pour que l'alimentation normale de la faune puisse être obtenue sans le concours des organismes humains, et dans les meilleures conditions imposées par la concurrence, il conviendra, avant tout, de limiter la densité de cette faune par le contrôle des lieux de développement. Les « grandes mesures antilarvaires » restent donc à la base d'une prophylaxie anti-anophélienne bien

conduite. La prophylaxie animale vaudra surtout, là où la faune anophélienne devra son développement à des gîtes de faible étendue. On l'opposera donc ou l'associera d'une façon vraiment efficace aux « petites mesures antilarvaires », dont on connaît, d'après les expériences longuement approfondies des Sergent, la grande importance prophylactique.

Mais d'autre part aussi, pour les espèces qui comme l'*A. maculipennis* stationnent pendant le jour à côté de leur hôte, les abris à bestiaux constitueront en même temps de véritables pièges, où l'on pourra détruire, par des visites périodiques, une énorme quantité d'Anophèles adultes. Associée ou non aux mesures antilarvaires, la chasse systématique dans les abris à bestiaux permettra de réduire au minimum la densité de la faune dangereuse. Cette chasse sera aisément pratiquée à l'aide de filets rudimentaires, de balais de paille ou de branchages enduits de glu ou de goudron, que l'on promènera en tous sens sur le plafonnement des abris et dans tous les recoins où, le jour, s'immobilisent les moustiques. De telles mesures effectuées avec vigilance pendant la période qui précède l'éclosion des épidémies palustres compléteront au maximum l'efficacité protectrice de la prophylaxie animale.

Enfin, la prophylaxie animale du paludisme nécessitera, d'une manière non moins rigoureuse, l'adaptation du bétail protecteur aux exigences biologiques spécifiques des Anophèles. La question mérite d'être examinée à part suivant qu'il s'agit de l'*A. maculipennis* ou des autres espèces anophéliennes.

Dans les régions (Méditerranée) où l'*A. maculipennis* représente l'espèce dominante, on devra s'inspirer pour le choix des hôtes de ce que nous avons dit des préférences alimentaires du moustique. Il est bien évident que les grands animaux, le bétail bovin, les chevaux et mulets, dont le rôle attractif est le plus important à l'égard de cette espèce d'Anophèle, constitueront les animaux les plus appropriés à la préservation humaine. Après eux, viendront les porcs, ou les chèvres et les moutons. Je ne mentionnerai que pour mémoire les lapins dont le rôle nourricier, important dans certaines circonstances, ne saurait jamais être considérable en raison des faibles dimensions de ces animaux.

Mais, quels que soient les hôtes protecteurs mis en cause,

il faut de toute évidence rappeler ici que l'introduction du bétail, dans une contrée à Anophèles, ne doit pas être considérée par elle-même comme un facteur efficient dans la lutte antipaludique. Seul comptera pratiquement à ce titre, le bétail placé dans des conditions de stabulation favorables à la nutrition des Anophèles, c'est-à-dire, suivant les cas, soit dans des abris de nature déterminée, ouverts ou non, soit en plein air.

On sait que R. Ross (1), après Arribalzaga et Ficalbi, distingue les moustiques, d'après leurs rapports avec l'homme, en trois catégories. Il dénomme moustiques *domestiques*, ceux qui passent la majeure partie de leur existence dans les maisons (tels *Culex fatigans*, *M. Rossii*); *sub-domestiques*, ceux qui y entrent seulement pour se nourrir de sang, et *sauvages*, ceux qui n'y pénètrent jamais. L'*A. maculipennis* appartient nettement, comme on l'a vu, à cette première catégorie. Il pique à l'intérieur des locaux occupés par ses hôtes, lorsque les dimensions de ces locaux n'excèdent pas certaines limites. Sera donc considéré comme seul efficient au point de vue prophylactique, le bétail maintenu, aux heures d'activité de l'Anophèle, sous des abris convenablement *clos*, et de hauteur *moyenne* ou *faible*.

Pour les autres espèces anophéliennes, ces circonstances varieront, comme on peut le penser; et il est absolument nécessaire, par suite, que les indications correspondantes décourent d'une connaissance préalable bien approfondie des habitudes de chaque espèce, comme de ses préférences animales.

On possède déjà pour certaines espèces anophéliennes quelques notions plus ou moins précises à ce sujet. J. Legendre, qui le premier, à notre connaissance, a nettement parlé de la protection exercée vis-à-vis de l'homme par certains animaux sur lesquels les anophélines aiment à se nourrir, a indiqué que les Anophèles de Tehentou piquaient volontiers son cheval dans l'écurie, alors qu'il n'en rencontrait pas dans une étable à génisse (2). A Hanoï (3), il les capturait de préférence dans les écuries des chevaux et des buffles. Malheureusement aucune des espèces anophéliennes en cause n'est identifiée avec précision, ce

(1) The Prevention of Malaria, Londres, J. Murray, 1910.

(2) Bull. Soc. Path. exot., t. 1, 1908, p. 227, 229.

(3) Bull. Soc. méd. chir. Indochine, t. 1, 1910, p. 164-65.

qui fait perdre à l'observation une partie de sa valeur. C. Mathis et M. Léger (1) précisent que *Myzorhynchus pseudopictus*, au Tonkin, préfère les écuries et les étables aux habitations humaines. C'est sans doute cette espèce qu'il ont signalée antérieurement (2) dans les étables à bufflons de l'Institut vaccinogène d'Hanoï. *Myzomyia Rossi*, au contraire, est le plus domestique des Anophèles du Tonkin et ne se rencontre qu'au voisinage de l'homme.

W. Schüffner et ses collaborateurs (3), dans une publication récente, précisent la biologie de *M. Ludlowi* à Sumatra. Moustique domestique, cet Anophèle est cependant plus abondant sous les vérandas ouvertes que dans l'intérieur des chambres. Les chevaux l'attirent peu; les ruminants, surtout les buffles, bien davantage : en 1917, sur 5,311 *M. Ludlowi* capturés, 2,978 l'ont été dans les étables à buffles. Aux Etats-Unis, selon C. W. Metz (4), l'*A. crucians* est plus fréquemment rencontré dans les étables, surtout les étables à porcs, que dans les habitations humaines.

Ces quelques exemples suffisent à montrer toute l'importance qu'il y a, pour l'organisation des mesures de protection animale antimalariaires, à déterminer d'une façon précise non seulement les préférences alimentaires de chaque espèce anophélienne, mais aussi le comportement propre de l'espèce en cause à l'égard des hôtes. Au point de vue qui nous occupe il serait indiqué de substituer à la classification de Ross une terminologie empruntée aux circonstances habituelles de nutrition sanguine, suivant que celle-ci exige le calme des abris, ou le grand air.

On pourrait ainsi distinguer les Anophélines en deux groupements essentiels :

Les *Entophiles* comprennent les espèces, domestiques ou non, qui, comme l'*A. maculipennis*, recherchent leurs hôtes à l'intérieur des habitations ou des abris clos : étables ou écuries ;

(1) *Rech. Parasit. et Path. hum. et anim. au Tonkin*, Pacis, Masson, 1911.

(2) *Bull. Soc. méd. chir. Indochine*, t. 4, 1910, p. 461.

(3) W. SCHÜFFNER, N. H. SWELLENGREBEL, J. M. H. SWELLENGREBEL DE GRAAF et ACHMAD MOCHTAR, *On the Biology of M. Ludlowi in Sumatra*. *Med. Burg. geneesk. Dienst in Ned. Ind.*, t. 3, 1919.

(4) *U. S. Publ. Health Repts*, Washington, t. 33, n° 49, 1918.

Les *Exophiles*, les formes qui attaquent leurs hôtes à l'extérieur, en plein air, de préférence aux abris clos (*A. bifurcatus*), ou sous des abris largement ouverts (vêrandas, hangars, etc.).

A ces deux groupements essentiels, on en peut adjoindre un troisième, celui des *Anophophiles*, comprenant les espèces non fixées à un mode d'attaque défini et qui piquent aussi bien à l'intérieur des abris qu'en plein air. Ces distinctions n'auront certainement rien d'absolu; mais elles sont commodes pour exprimer le « comportement » le plus habituel d'une espèce anophélienne dans une localité donnée.

Le bétail protecteur, pour être considéré comme *efficient* au point de vue antipaludique, devra donc, suivant les cas, être placé dans des conditions d'attaque correspondant à ces différentes catégories biologiques. Il s'ensuit que la prophylaxie animale du paludisme, et c'est là la principale difficulté à surmonter, devra s'accompagner d'une modification plus ou moins complète des habitudes locales, en ce qui concerne l'élève des bestiaux. S'il s'agit d'espèces *Enophiles*, les grands troupeaux de bœufs parqués en plein air à distance des habitations, comme c'est le cas le plus ordinaire dans les régions chaudes, seront absolument inexistant pour la protection humaine, tandis que l'habitude prise d'abriter au moins partiellement ces animaux, la nuit, pourra offrir les plus heureuses conséquences au point de vue antimalarique. On voit donc que, les principes généraux étant posés, la prophylaxie par le bétail devra être adaptée aux différentes circonstances, et s'inspirer avant tout étroitement de la connaissance éthologique des espèces anophéliennes dominantes. Elle sera dirigée avant tout contre celles dont le pouvoir pathogène local aura été reconnu comme le plus important. Ainsi comprise, il n'est pas douteux que cette nouvelle méthode prophylactique, lorsqu'il sera permis de l'appliquer, ne contribue dans une large mesure, et dans les meilleures conditions possibles, à l'assainissement des pays palustres.

## LES LEVURES DES SAUCISONS

par E. CÉSARI et A. GUILLIERMOND.

Au cours du séchage des saucissons crus, on voit apparaître, vers le cinquième jour, à la surface de l'enveloppe, un semis de petits grains blanchâtres, mats ou translucides, qui constituent ce que les praticiens désignent sous le nom de « fleur du saucisson ». Ces grains représentent des colonies mixtes, composées de levures et de staphylocoques.

On rencontre également des levures, associées à de nombreux éléments microbiens, dans le hachis de viande salée qui forme la pâte du saucisson.

De même, lorsqu'on saupoudre de sel marin du muscle de bœuf, de porc ou de cheval (et parfois aussi du muscle humain), prélevé proprement dans un morceau de viande, fraîche ou « rassise », on voit se développer, au bout de quelques jours, des colonies microbiennes auxquelles se trouvent mêlées des levures. (Ces levures ne sont pas apportées par le sel, car leur apparition s'observe même lorsqu'on emploie du chlorure de sodium chimiquement pur et stérilisé.)

On trouve également un grand nombre d'espèces de levures dans la saumure qui sert à la salaison des viandes, ainsi que sur les pièces de salaisons sèches et les lards salés.

Toutes les levures isolées des saucissons, la plupart de celles provenant des viandes salées et de la saumure, montrent des caractères assez semblables.

La grande majorité d'entre elles se présentent sous forme de cellules sphériques ou ovoïdes, généralement réunies par petites colonies constituées par une grosse cellule adulte entourée de petites cellules issues du bourgeonnement de celle-ci. Elles offrent, en général, dès le plus jeune âge, à leur centre, un petit globule d'huile qui, avec le vieillissement, peut devenir énorme. Ces levures présentent donc les caractères que l'on observe chez les *Torula*. (Cependant l'une d'elles, l'espèce que nous désignerons ci-après par la lettre B1, s'écarte

notablement du type *Torula* et se rapproche, par ses cellules presque toujours ovoïdes, des levures du type *ellipsoïdeus*.)

En général, ces levures ne végétent qu'à des températures relativement peu élevées. Elles poussent très lentement à 2°-5° et ont leur optimum de croissance vers 20°-25°; quant au maximum, il varie selon les espèces entre 32°-33°, 33°-34°, 35°-36°, 36°-37°; très rarement, il est situé entre 38° et 39°.

Toutes ces levures sporulent très facilement et d'ordinaire abondamment sur gélose de Gorodkowa. Elles sporulent facilement aussi, mais un peu moins vite, sur tranche de pomme de terre, et plus difficilement sur tranche de carotte. La sporulation ne s'obtient pas sur bloc de plâtre.

La sporulation est toujours précédée d'une copulation hétérogamique, semblable à celle que l'un de nous [1] a décrite dans le *Debaryomyces globosus* (Klöcker) et qui, plus tard, a été retrouvée par Konokotine [2] dans *Debaryomyces tyrocola*. Cette copulation s'effectue entre deux gamètes de dimensions généralement inégales. Les deux gamètes forment chacun un petit bec au moyen duquel ils s'unissent par un canal de copulation, puis tout le contenu du gamète mâle se déverse dans le gamète femelle qui se transforme en un asque renfermant une seule ascospore, très rarement deux ou plus.

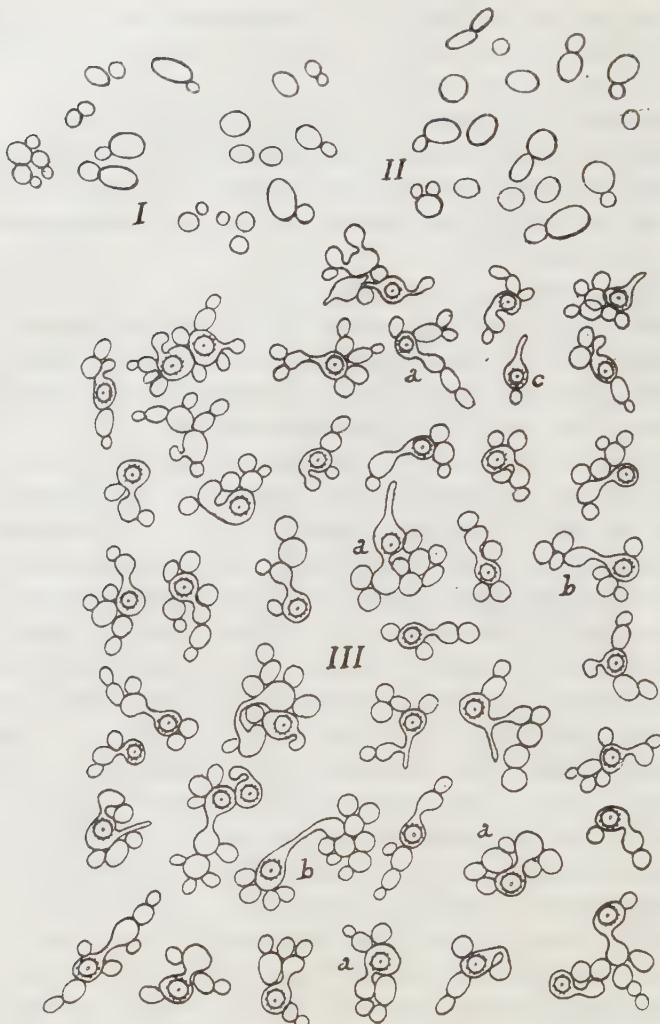
On rencontre d'ordinaire, dans une même espèce, toutes les transitions entre l'iso- et l'hétérogamie, comme cela s'observe dans *Debaryomyces globosus* et *tyrocola*. Dans certains cas, les gamètes sont morphologiquement semblables; dans d'autres, la différenciation sexuelle est poussée à l'extrême. C'est ainsi que souvent la copulation s'effectue entre une grosse cellule adulte jouant le rôle de gamète femelle et une très petite cellule, n'ayant pas achevé sa croissance, qui représente le gamète mâle. Entre ces deux types, on peut observer tous les intermédiaires. Cependant, au point de vue physiologique, il y a toujours hétérogamie, car, même lorsqu'ils sont morphologiquement semblables, les deux gamètes n'ont pas la même fonction et l'un d'eux vide toujours son contenu dans l'autre.

Chez quelques espèces, comme B1, les gamètes sont aussi

peu différenciés que possible et la copulation s'effectue presque toujours entre deux gamètes semblables ou, tout au moins, peu dissemblables. Chez d'autres, au contraire, comme Pv, les gamètes sont très différenciés et la copulation s'opère le plus souvent entre une grosse et une très petite cellule. Chez d'autres espèces enfin, les deux types de copulation se rencontrent à peu près avec une égale fréquence ou avec prédominance de l'un ou de l'autre.

La parthénogénèse est extrêmement rare : nous ne l'avons rencontrée que dans la levure B, où l'on constate parfois, mais rarement, des ascospores qui naissent dans des cellules pourvues de becs ou d'appendices plus ou moins allongés n'ayant pas réussi à se souder avec une autre cellule.

Il est facile de suivre en culture, sous chambre humide de Van Tieghem et Le Monnier, la copulation et la formation des spores, en utilisant comme milieu la gélose de Gorodkowa. La copulation de la levure B1, qui offre toutes les transitions entre l'iso- et l'hétérogamie, a été particulièrement étudiée par nous. On constate que la levure se développe, dans ce milieu, sous forme de colonies constituées par un petit nombre d'éléments disposés en chaînettes et issus du bourgeonnement d'une seule cellule. La cellule d'où dérive la colonie et les premières cellules formées sont beaucoup plus volumineuses que les éléments jeunes. En règle générale, la copulation s'opère entre les cellules d'une même colonie ; ce sont les cellules les plus grosses, c'est-à-dire les plus âgées, qui jouent le rôle de gamètes femelles et les cellules les plus petites, c'est-à-dire les plus jeunes, qui remplissent l'office de gamètes mâles. Les gamètes sont donc très proches parents, comme cela se constate d'ailleurs également dans les autres levures. Parfois ce sont deux cellules contiguës et paraissant être sœurs qui se fusionnent, tantôt ce sont des cellules séparées par un ou plusieurs éléments ; d'autres fois la copulation s'effectue entre des cellules appartenant à des colonies différentes situées au voisinage l'une de l'autre et par conséquent de parenté éloignée (fig. 4, III). Dans certains cas, il arrive que deux cellules contiguës émettent chacune un bec dirigé en sens opposé et qui naturellement ne parviennent pas à s'unir. Des gamètes peuvent d'ailleurs former des becs en différents sens avant de pouvoir

FIG. 1. — *Levure Bl.*

I. — Cellules du dépôt d'une culture en moût de bière au bout de quarante-huit heures, à 25°. *Type ellipsoïdeus*.

II. — Cellules d'une culture sur tranche de carotte au bout de vingt-quatre heures.

III. — Colonies de cellules observées en chambre humide sur gélose de Gorodkowa. Les colonies sont constituées par un petit nombre d'éléments issus du bourgeonnement d'une seule cellule. La copulation s'opère généralement entre deux cellules d'une même colonie (a), parfois entre deux cellules appartenant à des colonies différentes (b). Très rarement, la sporulation se produit par parthénogénèse (c) lorsque la cellule ne parvient pas à s'unir.

opérer leur jonction. Enfin, on constate parfois des fusions entre trois cellules.

Nous avons également suivi, en chambre humide, la copulation de la levure *Pv* où les gamètes sont très dissemblables.

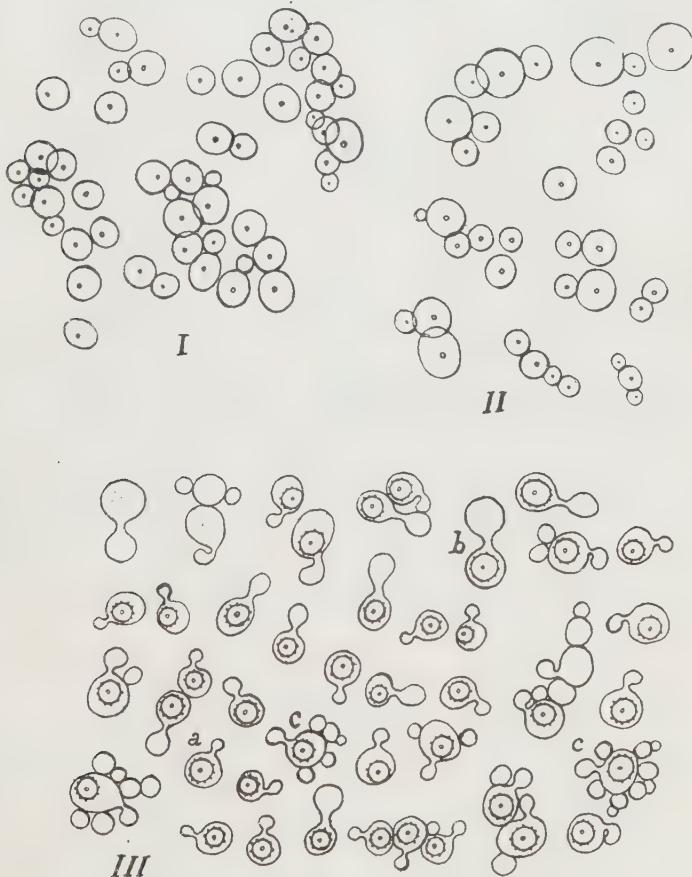


FIG. 2. — *Levure Pv.*

I. — Cellules du dépôt d'une culture en mout de bière, au bout de quarante-huit heures, à 25°. Type *Torula*.

II. — Cellules d'une culture sur tranche de carotte, après vingt-quatre heures.

III. — Divers stades de la copulation et de la formation des spores sur gélose de Gorodkowa. On trouve toutes les transitions entre l'iso- et l'hétérogamie; en *a* la copulation s'effectue entre deux gamètes très différents; en *b*, entre deux gamètes presque semblables. Le plus souvent, la conjugaison se fait entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement (*c*).

Ici, la colonie dérive d'une grosse cellule centrale qui présente un bourgeonnement rayonnant donnant naissance à de très petites cellules. On constate que la copulation s'effectue presque toujours entre la grosse cellule mère et un petit élément issu de l'un de ses bourgeonnements (fig. 2, III, c).

On voit donc qu'en réalité les règles qui président à la différenciation et à l'affinité sexuelles restent obscures et échappent à notre analyse.

Les asques renferment presque toujours une seule ascospore, très rarement deux, et tout à fait exceptionnellement trois. Les ascospores sont toujours sphériques et toutes renferment au centre un petit globule d'huile; elles sont munies d'une membrane qui présente des verrucosités plus ou moins apparentes selon les espèces.

La membrane de l'asque persiste jusqu'au moment de la germination de l'ascospore qui s'opère toujours par bourgeonnement ordinaire. La germination débute par un gonflement de l'ascospore qui amène la disparition des verrucosités, puis sa membrane se soude à la paroi de l'asque qui porte encore les restes du gamète mâle vide. Bientôt l'ascospore forme un petit bourgeon qui déchire la paroi de l'asque et se développe en bourgeonnant à son tour. Souvent on aperçoit encore autour de la nouvelle cellule les vestiges de la membrane de l'asque (fig. 3, IV).

Au point de vue des caractères culturaux, les levures que nous décrivons peuvent être divisées en *trois groupes*.

Le *premier groupe* est représenté par des espèces qui, dès le début de leur culture en mout de bière, forment un voile épais, plissé et un anneau qui remonte très haut sur les parois du tube. Le liquide reste longtemps louche. Il se forme, au fond du vase, un dépôt résultant de la chute de fragments du voile. Sur carotte et sur gélatine, la culture se recouvre transitoirement d'un tapis blanc mat, tomenteux. L'eau de condensation des cultures sur milieux solides présente un voile qui monte sur les parois du verre.

Les espèces étudiées ici qui appartiennent à ce groupe sont désignées provisoirement par les initiales H, K, B, Fm, Pv et Sa. Elles présentent les caractères des levures du deuxième groupe de la classification de Hansen.

Le deuxième groupe est caractérisé par des espèces qui donnent en moût de bière une végétation de dépôt. Elles

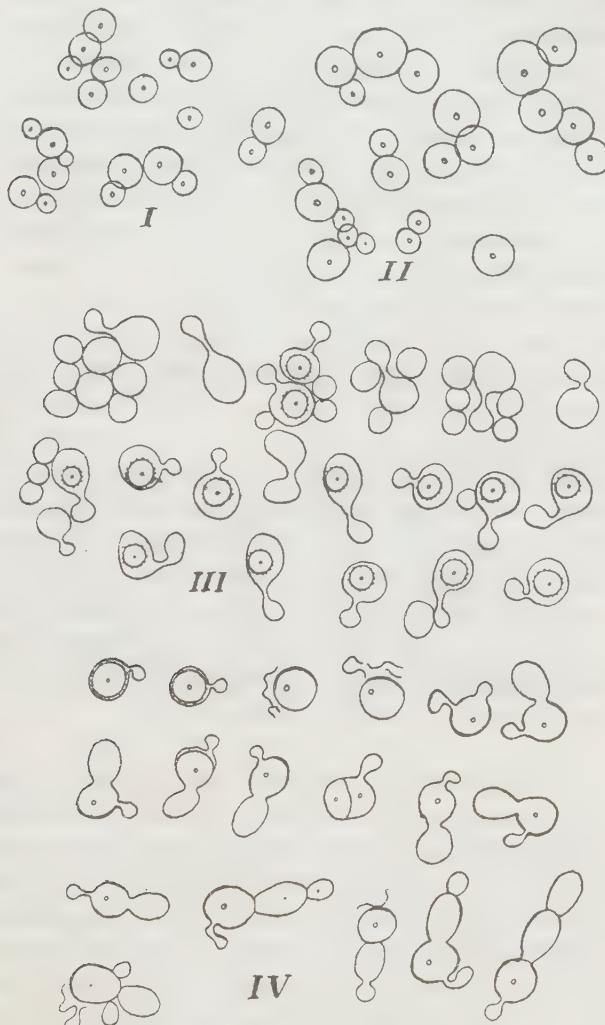


FIG. 3. — *Levure K.*

I, II et III. — Mêmes légendes que pour la figure 2.

IV. — Germination de l'ascospore par bourgeonnement.

forment un anneau, mais pas de voile, et le liquide s'éclaircit au bout de quelques jours. Sur carotte et sur gélatine, il se

forme d'emblée une culture crèmeuse. L'eau de condensation des milieux solides ne se couvre pas d'un voile. Les espèces décrites ci-après qui se rangent dans ce groupe sont désignées provisoirement par les initiales V, Fb, B1 et G; elles se rapportent au premier groupe de la classification de Hansen.

Les levures du *troisième groupe* donnent, en mout de bière, au bout de quarante-huit heures environ, un voile tenu et fragile. Pour le reste, elles se comportent à peu près comme les levures du groupe précédent. Appartiennent à ce groupe, dans la description qui suit, les espèces désignées par les initiales Sb, Op et Pp. On peut considérer ce groupe comme un intermédiaire entre le premier et le second.

Toutes les espèces étudiées ici donnent sur gélose de Gorodkowa et sur pomme de terre une végétation qui, au bout d'un temps plus ou moins long, prend une couleur brun chocolat. La pomme de terre brunit toujours.

Au point de vue biochimique, certaines de ces levures invertissent rapidement et énergiquement le saccharose, les autres l'invertissent plus ou moins lentement. Par la méthode des petites fermentations de Lindner, nous n'avons obtenu, pour toutes ces levures, aucune fermentation du saccharose, dextrose, lévulose, maltose, *d* mannose, *d* galactose, raffinose, lactose et dextrine. Cependant l'espèce Fm a donné de très légers indices de fermentation du lévulose.

Par leur copulation hétérogamique et par leurs ascospores à membrane verruqueuse, toutes ces levures se rapportent au genre *Debaryomyces* créé récemment par Klöcker [4]. Les espèces du genre *Debaryomyces* qui, jusqu'ici, n'étaient qu'au nombre de deux, *D. globosus* (Klöcker) et *D. tyrocola* (Konokotine), paraissent donc très répandues dans la nature. L'un de nous [4] a eu l'occasion, tout récemment, d'en isoler deux autres, dont l'une, désignée sous le nom de *Debaryomyces Klöckerii*, a été trouvée dans les fausses membranes d'un malade atteint d'une angine.

Un fait intéressant se dégage de nos observations. Le genre *Debaryomyces* était rangé, jusqu'ici, en raison de ses caractères culturaux, dans le premier groupe de la classification de Hansen. Or si le genre *Debaryomyces* comprend des espèces qui,

végétant presque exclusivement sous forme de dépôt dans les milieux liquides, rentrent dans ce groupe, il possède aussi des représentants qui végètent sous forme de voile et se placent dans le deuxième groupe de cette même classification [5]. On trouve d'ailleurs, dans les nouvelles espèces du genre *Debaryomyces*, tous les intermédiaires entre ces deux types. Ce genre ne peut donc être classé ni dans le premier, ni dans le second groupe de Hansen, groupes qui, par conséquent, ne sont pas aussi nettement délimités qu'on le pensait jusqu'à ce jour.

#### 1<sup>er</sup> GROUPE. — TYPE H.

##### Levure H.

I. ORIGINE. — Isolée de la « fleur » d'un saucisson préparé avec de la viande de cheval.

##### II. CARACTÈRES DES CULTURES.

*Moût de bière.* — A 25°, au bout de vingt-quatre heures, il se forme un voile et un anneau. Bientôt le voile se plisse et l'anneau remonte sur les parois du verre, jusqu'à une hauteur qui peut atteindre plusieurs centimètres. En même temps, il se produit, au fond du flacon, un dépôt qui s'accroît rapidement par la chute de fragments du voile. Le voile est sec, blanc, farineux; il n'emprisonne pas de bulles d'air. Le liquide reste longtemps trouble et ne s'éclaircit qu'à la longue.

A 5°, au voisinage de la température minima compatible avec la croissance, l'anneau apparaît au bout de huit jours environ, puis des îlots de voile se forment à la surface du liquide et se réunissent pour constituer un voile continu, vers le onzième jour.

A 35°, au voisinage de la température maxima, l'anneau et les îlots de voile se montrent au bout de quatre jours; le voile est complet le cinquième jour.

*Bouillon Martin* (neutre, glucosé à 2 p. 1.000). — La culture présente les mêmes caractères qu'en moût de bière, mais le développement est plus rapide et plus abondant. Les cultures dégagent une odeur agréable, rappelant celle des cultures du bacille tuberculeux.

*Carotte.* — Enduit blanc, épais, se couvrant, vers le troisième ou quatrième jour, d'un tapis blanc mat, tomenteux. Puis, la culture redevient unie, crémeuse, brillante et prend une teinte café au lait de plus en plus foncée.

*Pomme de terre.* — Couche épaisse, blanc grisâtre, à surface d'abord granuleuse, puis unie. La coloration fonce, dans les jours qui suivent, jusqu'à la teinte brun chocolat. De petits bourgeons isolés ou réunis en bouquet, apparaissent souvent au-dessus de la culture, sur laquelle ils tranchent par leur teinte plus claire, vers le huitième jour.

*Gelatine inclinée.* — Trainée cireuse qui s'étale en plateau et se couvre d'une couche duveteuse, blanche. Les bords amincis sont festonnés. Vers le vingtième jour, une gouttière se creuse brusquement dans le milieu et toute la culture coule au fond du tube.

*Géla'ine droite.* — Lors d'ensemencement par piqûre, il se forme une lame

triangulaire constituée par de très fins glomérules qui, sur les bords, se renflent en massue. La liquéfaction de la couche supérieure s'opère vers le vingt-cinquième jour.

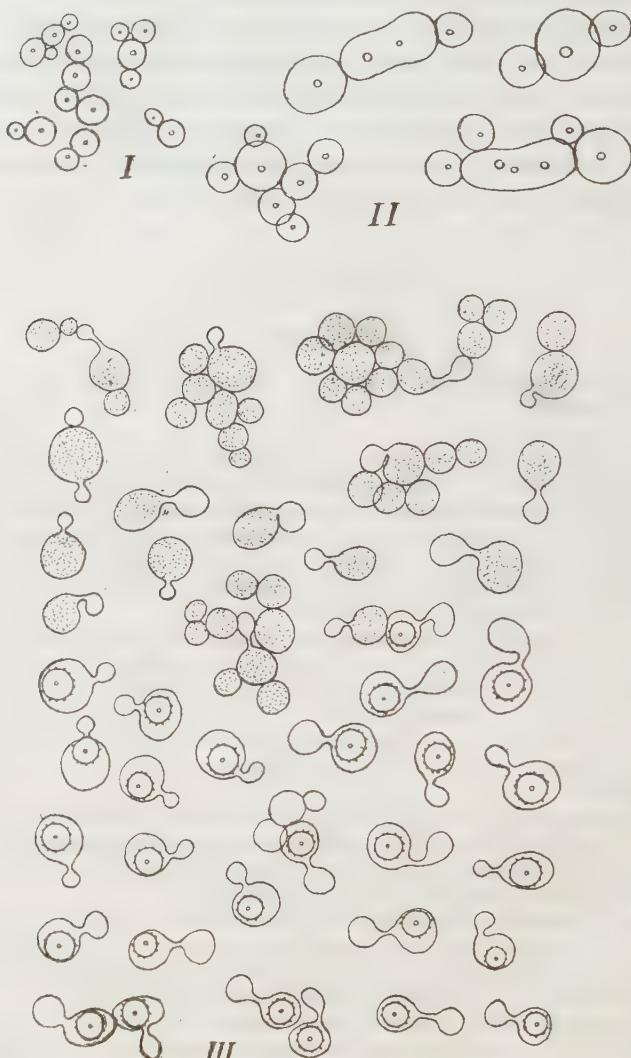


FIG. 4. — *Levure H.*

I. — Cellules du dépôt d'une culture en mout de bière, au bout de quarante-huit heures, à 25°.

II. — Cellules d'une culture sur tranche de carotte, après vingt-quatre heures.

III. — Stades successifs de la copulation et de la formation des spores sur gélose de Gorodkowa.

*Gélose au moût.* — De petites colonies arrondies, blanches, cireuses, se développent le long de la strie et se fondent rapidement en une trainée épaisse, d'un blanc porcelaine, qui forme un plateau bordé par un ourlet festonné et doublé par une mince frange étalée, formant un pli à chaque cran.

*Colonne géante.* — N'offre rien de caractéristique.

III. ASPECT MACROSCOPIQUE DES CELLULES. — En moût de bière, à 25°, les cellules de dépôt, observées au bout de trente-six, quarante-huit heures, sont généralement ovoïdes, mais on rencontre aussi des éléments sphériques (fig. 4, I et II). Les dimensions moyennes des cellules adultes sont ordinairement de 4  $\mu$  à 5  $\mu$  5 de long sur 3  $\mu$  8 à 4  $\mu$  5 de large.

Les cellules se montrent isolées ou réunies en un petit nombre d'éléments, le plus souvent deux, rarement trois. On ne constate, d'ordinaire, qu'un seul bourgeon développé au pôle aigu.

Sur tranche de carotte, de nombreux éléments émettent des rudiments mycéliens.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — A 30-50°, la levure végète très lentement. La température maxima pour le bourgeonnement sur moût est : 35°-36°. L'optimum est situé entre 20 et 25°.

V. SPORULATION. — La sporulation est précédée d'une copulation qui s'effectue tantôt entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement, tantôt entre deux cellules de dimensions presque semblables (fig. 4, III). On constate de nombreuses formes intermédiaires entre les deux types de copulation, mais le premier est prédominant. Les asques renferment une seule ascospore (2 à 4  $\mu$ ), à paroi verruqueuse.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — Sur gélose de Gorodkowa, la sporulation ne s'effectue qu'à partir de 9°; à cette température les ascospores apparaissent au bout de quinze jours. La température optima paraît être au voisinage de 20°-25°; les ascospores mettent six jours pour se former à cette température. La température maxima se trouve située entre 25° et 29°.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure intervertis très lentement le saccharose et ne produit pas de fermentation.

### Levure K.

I. ORIGINE. — Isolée de la pâte d'un saucisson de cheval.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Ne diffèrent pas sensiblement de ceux de la levure H. Sur moût, à 32°, voisinage de la température maxima, l'anneau apparaît au bout de quatre jours et le voile au bout de sept jours.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — En moût de bière, à 25°, au bout de trente-six, quarante-huit heures, les cellules sont sphériques (fig. 3, I et II). Leur diamètre varie de 3 à 8  $\mu$ .

IV. TEMPÉRATURES LIMITES POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure végète lentement entre 3° et 5°. La température maxima est : 34°-35°. L'optima est situé aux environs de 25°.

V. SPORULATION. — La sporulation est précédée d'une copulation qui s'effectue le plus souvent entre deux cellules de dimensions peu différentes et rarement entre une grosse cellule et une des petites cellules issues de son bourgeonnement (fig. 3, III). Les asques renferment une seule ascospore (2-3  $\mu$ ), à paroi plus ou moins verruqueuse.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation ne

se fait pas au-dessous de 9°. A 9°-10°, les ascospores mettent dix jours pour se former sur gélose de Gorodkowa. La température optima semble être au voisinage de 25°; à cette température, les ascospores apparaissent au bout de quatre jours. La température maxima se trouve située entre 25° et 29°.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit très lentement le saccharose. Elle ne produit aucune fermentation.

### Levure B.

I. ORIGINE. — Isolée de la « fleur » d'un saucisson de cheval.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Sur mout de bière, à 25°, cette levure se comporte comme les précédentes. A 5°, l'anneau apparaît au bout de dix jours et le voile est complet le onzième jour; à 32°, anneau et voile se montrent après quatre jours, ce dernier est complet au bout de sept jours. Sur les autres milieux, les caractères des cultures ne diffèrent pas sensiblement de ceux de la levure H. La liquéfaction de la gélatine est cependant plus rapide et s'observe dès le douzième jour sur les tubes inclinés, vers le vingtième sur les tubes droits.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Sur mout de bière, les cellules sont ovoïdes ou sphériques. Les dimensions moyennes sont de 5 à 5  $\mu$  8 de long sur 4 à 4  $\mu$  5 de large.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES POUR LE BOURGEONNEMENT. — A 30-35°, la levure se développe très lentement. La température maxima pour le bourgeonnement sur mout de bière est entre 34° et 35°. L'optimum paraît situé entre 20° et 25°.

V. SPORULATION. — La sporulation est précédée d'une copulation hétérogamique qui s'effectue tantôt entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement, tantôt entre deux cellules de dimensions peu différentes. Le premier mode paraît un peu plus fréquent que le second. Les ascospores sont uniques, leur paroi est assez nettement verruqueuse.

A 32°, sur gélose de Gorodkowa, cette levure a une tendance à donner des cellules géantes rondes.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES POUR LA SPORULATION. — La sporulation ne s'effectue pas au dessous de 9°; à cette température, sur gélose de Gorodkowa, les spores apparaissent au bout de neuf jours. A 25°, elles se forment en huit jours. La température maxima est située entre 25° et 29°.

VIII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit très lentement le saccharose et ne donne pas de fermentation.

### Levure Fm.

I. ORIGINE. — Isolée de la pâte d'un saucisson fait avec de la viande de bœuf.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Sur mout de bière, à 5°, l'anneau ne se produit qu'au bout de neuf jours et le voile au bout de dix jours; à 35°, l'anneau apparaît le dixième jour et le voile est continu le douzième. Pour le reste, la levure se comporte comme les précédentes.

Sur les autres milieux, aucune différence notable avec la levure H.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont ovoïdes ou sphériques, associées par deux ou isolées. Leurs dimensions moyennes sont de 4  $\mu$  4 à 5  $\mu$  6 de long sur 3  $\mu$  6 à 4  $\mu$  8 de large.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure se

développe lentement à partir de 3°-5°. La température maxima pour le bourgeonnement sur mout de bière est située à 35°-36°.

L'optimum est au voisinage de 25°.

V. SPORULATION. — La sporulation est précédée d'une copulation hétérogamique qui s'effectue le plus souvent entre deux gamètes plus ou moins dissemblables, mais rarement entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement. Les asques renferment une seule ou, rarement, deux ascospores, portant des verrucosités plus ou moins apparentes.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation ne se fait pas au-dessous de 9°. A 9°-10°, sur gélose de Gorodkowa, les ascospores apparaissent au bout de onze jours. A 25°, elles se forment en sept jours. La température maxima est comprise entre 25° et 29°.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit lentement le saccharose et ne donne qu'une très faible fermentation du lévulose.

#### Levure Pv.

I. ORIGINE. — Isolée d'un morceau de viande de porc saupoudré de sel marin.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Sur mout, à 25°, la levure se développe comme les précédentes. A 5°, on constate l'apparition de l'anneau au bout de six jours et la formation du voile au bout de huit. A 35°, anneau et voile apparaissent le quatrième jour.

Sur les autres milieux, les caractères des cultures sont les mêmes, à peu de chose près, que ceux de la levure H. A noter cependant que la levure forme, sur bouillon Martin, un voile excessivement épais et que sur gélose la trainée est largement plissée.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont généralement sphériques; quelques-unes sont ovoïdes (fig. 2, I et II). Elles sont associées par deux ou trois ou isolées. Leur diamètre est ordinairement de 4  $\mu$  5 à 5  $\mu$  5.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — A 3°-5°, la végétation est très lente. La température maxima pour le bourgeonnement est située entre 35°-36°. L'optimum est au voisinage de 25°.

V. SPORULATION. — Elle s'effectue généralement à la suite d'une copulation hétérogamique entre une grosse cellule et l'une des petites cellules de son bourgeonnement, plus rarement entre deux cellules peu dissemblables. Les asques renferment une seule ascospore (2 à 3  $\mu$ ), à paroi nettement verrueuse (fig. 2, III).

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation ne se produit pas au-dessous de 9°. A cette température les spores se forment en dix jours sur gélose de Gorodkowa. A 25°, température optima, la sporulation s'effectue au bout de trois jours. La température maxima est située entre 29° et 35°.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit très lentement le saccharose et ne donne pas de fermentation.

#### Levure Sa.

I. ORIGINE. — Isolée d'une saumure de salaison de porc.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Sur mout de bière, à 25°, la levure présente les mêmes caractères que les précédentes. A 5°, l'anneau et des îlots de

voile apparaissent le huitième jour; le voile n'est complet qu'au bout de seize jours. A 25°, l'anneau et les îlots de voile se montrent au bout de trois jours et le voile est continu le cinquième jour.

Aucune différence notable avec la levure H sur les autres milieux.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont le plus souvent sphériques; quelques-unes sont ovoides. Elles sont associées par deux ou trois et portent un ou deux bourgeons. Leur diamètre moyen varie de 4 à 6  $\mu$ .

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure se développe encore, mais très lentement, au-dessous de 3°. La température maxima pour le bourgeonnement sur mout de bière est située entre 38° et 39°. L'optimum est situé entre 25° et 30°.

V. STERILATION. — La copulation s'effectue le plus souvent entre deux cellules peu dissemblables, mais parfois aussi entre une grosse cellule et une petite cellule issue de son bourgeonnement. Les ascospores (2-3  $\mu$ ) sont nettement verruqueuses.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA STERILATION. — Les ascospores ne se forment pas au-dessous de 9°. A cette température, sur gélose de Gorodkowa, elles commencent à se former au bout de six jours. A 25°, qui paraît être la température optima, elles se forment au bout de trois jours. La température maxima est située entre 25° et 29°.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit rapidement et énergiquement le saccharose. Elle ne produit pas de fermentation.

## 2<sup>e</sup> GROUPE. — TYPE V

### Levure V.

I. ORIGINE. — Isolée de l'enveloppe d'un saucisson sec fabriqué avec de la viande de bœuf et de porc.

#### II. CARACTÈRES DES CULTURES.

*Mout de bière.* — En moins de vingt-quatre heures, à 20°-25°, apparaissent de fins grumeaux blancs qui flottent dans le milieu et se déposent bâtiivement. Après quarante-huit heures, un anneau blanc, crémeux, adhèrent, se forme sur les parois du verre, au niveau de la surface du liquide. Dans les jours qui suivent, l'anneau s'épaissit, le dépôt augmente, tandis que le milieu s'éclaircit de plus en plus.

Vers 3°-5°, le dépôt se forme très lentement et ne devient assez abondant que vers le vingtième jour. A 35°, la levure produit d'abord un faible dépôt; un anneau minime apparaît le onzième jour.

*Bouillon Martin* (neutre, glucosé à 2 p. 1.000). — L'anneau commence à se former déjà, à 20°-25, vers la trentième heure. Dès le début de la culture, le sédiment est abondant. Le liquide reste clair. Les cultures dégagent, comme les précédentes, une odeur rappelant celle de la fleur de Seringa.

*Carotte.* — Couche épaisse, crémeuse, brillante, blanc porcelaine. Les bords sont très finement dentelés.

*Pomme de terre.* — Enduit épais, sec, à surface mamelonnée, de teinte café au lait passant plus tard au brun chocolat. La pomme de terre brunit.

*Gélose au mout.* — Trainée de colonies blanches, en gouttelettes de cire, confluant bientôt pour former un enduit épais, brillant, à bords largement festonnés, avec un sillon transversal partant de chaque échancrure.

*Gélose Gorodkowa.* — La culture prend, au bout d'un mois, une coloration brun chocolat.

*Gélatine.* — Mêmes caractères que sur gélose. Vers le douzième jour, une gouttière se creuse dans le milieu et la culture coule au fond.

*Colonne géante.* — Forme une calotte régulière, blanche, unie, à bords nets.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont ovoïdes ou sphériques. Les éléments ovoïdes portent le bourgeon au pôle aigu. Les dimensions moyennes sont de  $4 \mu$  5 à  $5 \mu$  sur  $3 \mu$  2 à  $4 \mu$ .

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure végète lentement entre  $3^{\circ}$  et  $5^{\circ}$ . La température maxima, sur mout de bière, est située entre  $35^{\circ}$  et  $36^{\circ}$ . L'optimum semble être au voisinage de  $25^{\circ}$ .

V. SPORULATION. — La copulation s'accomplit le plus souvent entre une grosse cellule et une petite cellule issue de son bourgeonnement. Les asques renferment une ascospore, rarement deux (2-4  $\mu$ ), pourvue d'une membrane à verrucosités plus ou moins visibles.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure sporule à partir de  $9^{\circ}$ . Les ascospores se forment au bout de dix jours à cette température et de neuf jours, à  $18^{\circ}$ - $23^{\circ}$ , température optima. Le maximum est situé entre  $25^{\circ}$  et  $29^{\circ}$ .

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit lentement le saccharose et ne produit aucune fermentation.

#### Levure Fb.

I. ORIGINE. — Isolée de la « fleur » d'un saucisson de bœuf.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Présente, en mout de bière, les mêmes caractères que la levure V. A  $5^{\circ}$ , l'anneau apparaît le onzième jour, à  $35^{\circ}$ , le douzième jour.

Sur les autres milieux, la levure se comporte à peu près comme la levure V. La liquéfaction de la gélatine s'opère vers le trentième jour.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont sphériques ou ovoïdes, isolées ou associées par deux. Leurs dimensions sont en moyenne de  $4 \mu$  8 à  $6 \mu$  de long sur  $4 \mu$  à  $5 \mu$  de large.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure végète lentement à  $3^{\circ}$ - $5^{\circ}$ . La température maxima, en mout de bière, est située entre  $35^{\circ}$  et  $36^{\circ}$ . L'optima paraît être au voisinage de  $25^{\circ}$ .

V. SPORULATION. — La sporulation est précédée d'une copulation hétérogamique qui, le plus souvent, s'opère entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement, mais qui peut se produire aussi entre deux gamètes peu dissemblables. On trouve généralement une ascospore par asque, quelquefois deux. Les spores ont une membrane plus ou moins verruqueuse.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation commence à partir de  $9^{\circ}$ . Sur gélose de Gorodkowa, à cette température, les spores se forment en dix jours. A  $25^{\circ}$ , elles se forment en quatre jours. La température maxima est comprise entre  $25^{\circ}$  et  $29^{\circ}$ .

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit lentement le saccharose et ne donne aucune fermentation.

#### Levure B1.

I. ORIGINE. — Isolée d'un morceau de viande de bœuf saupoudré de sel stérilisé.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Diffèrent peu de ceux de la levure V. En moût de bière, l'anneau n'apparaît, à 5°, qu'au bout de trois semaines seulement. Sur gélatine, on observe une trainée unie, blanc porcelaine, à bords crénelés et relevés en ourlet.

III. CARACTÈRES MICROSCOPIQUES DES CELLULES. — Les cellules sont ovoïdes, avec bourgeon polaire ou prépolaire; elles sont généralement associées par deux ou trois (fig. 1, I et II). Leurs dimensions moyennes sont de 4  $\mu$  2 à 5  $\mu$  3 de long et de 3 à 4  $\mu$  de large.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure végète lentement à 30-35°. Sur moût de bière, la température maxima est située entre 34° et 35°. L'optimum est au voisinage de 25°.

V. SPORULATION. — Elle est précédée d'une copulation qui, au point de vue morphologique, présente tous les intermédiaires entre l'iso- et l'hétérogamie (fig. 1, III). Le plus ordinairement, elle s'effectue entre deux cellules de dimensions peu différentes, souvent même semblables; rarement, entre une cellule adulte et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement.

Les asques forment une seule ascospore (2-3  $\mu$ ); exceptionnellement, deux. La membrane de la spore est nettement verruqueuse.

On constate quelques cas de parthénogénèse, dans lesquels les ascospores se forment aux dépens de cellules pourvues d'un bec au moyen duquel elles ont cherché, sans y parvenir, à s'unir à l'une de leurs congénères.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation ne se produit qu'à partir de 9°, température à laquelle, sur gélose de Gorodkowa, les ascospores mettent dix jours à se former. A 23°, température optima, elles se montrent au bout de deux jours. La température maxima est située entre 32° et 34°. A 32°, la sporulation se produit le sixième jour. Beaucoup de cellules émettent de longs becs au moyen desquels elles cherchent à s'unir, mais très peu réussissent et la sporulation se produit surtout par parthénogénèse. De plus, aux environs de la température maxima, la levure offre la particularité de fournir de nombreuses cellules cylindriques formant des rudiments mycéliens.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit lentement le saccharose; elle ne provoque aucune fermentation.

### Levure G.

I. ORIGINE. — Isolée de l'enveloppe d'un saucisson sec « pur porc ».

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — *En moût de bière.* La végétation présente les mêmes caractères que ceux de la levure V. A 5°, l'anneau apparaît au bout de dix-huit jours; il se forme en cinq jours, à 35°.

Sur carotte, la culture prend une coloration jaune noisette.

Sur gélose, il se forme une trainée épaisse, unie, blanc porcelaine. Des bords festonnés se détache une frange très mince, givrée. Au bout de plusieurs mois, la culture se développe en profondeur sous forme de fines houppettes qui, se détachant du raphé médian, s'enfoncent dans le milieu.

Sur gélatine, on a une trainée circuse, à surface chagrinée, échancrée sur les bords qui sont découpés en feuille de capillaire. La liquéfaction est tardive et peu prononcée.

La colonie géante se présente sous forme d'un disque épais, blanc jaunâtre, d'abord uni, puis verruqueux. Les bords sont largement échancrés et finement dentelés.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont ovoïdes ou

sphériques, le plus souvent associées en amas. Les dimensions, extrêmement variables, oscillent de 3 à 7  $\mu$ .

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure se développe lentement entre 3° et 5°. La température maxima, sur moût de bière, est située entre 35° et 36°. L'optima est au voisinage de 25°.

V. SPORULATION. — La copulation s'effectue presque toujours entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement. Les asques renferment une, seule ascospore (2-3  $\mu$ ) à paroi pourvue d'aspérités.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation ne se produit [qu'à partir de 9°; le maximum est compris entre 25° et 29°, l'optimum est à 25°. Les spores se forment en dix jours à 9°, en quatre jours à 25°.]

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — Le [saccharose est inverti lentement. Aucune fermentation.

### 3<sup>e</sup> GROUPE. — TYPES INTERMÉDIAIRES ENTRE H ET V.

#### Levure Sb.

I. ORIGINE. — Isolée de la « fleur » d'un saucisson fait avec un mélange de viande de bœuf et de porc.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — Pas de différence sensible avec les levures du type V sur les différents milieux, sauf en bouillon Martin où la levure produit un voile fragmentaire, très tenu, en même temps qu'un anneau.

En moût de bière, à 25°, la levure donne, au bout de vingt-quatre heures, un faible dépôt et un anneau minime. Le dépôt devient abondant au bout de quarante-huit heures; l'anneau est assez développé après quatre jours. Parfois, mais pas toujours, on observe l'apparition d'un voile tenu, pelliculaire, sous forme d'îlots séparés. A 5°, la levure ne donne un dépôt abondant qu'au bout de six jours. A 35°, le dépôt n'est appréciable que vers le dixième jour.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont sphériques, généralement accolées par deux. Elles sont ordinairement de 4  $\mu$  8 à 6  $\mu$  de diamètre.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure se développe lentement entre 3° et 5°; maximum, entre 35° et 36°; optimum, au voisinage de 25°.

V. SPORULATION. — Dans la grande majorité des cas, la copulation s'opère entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement. Les asques renferment généralement une seule ascospore (2-4  $\mu$ ), rarement deux, exceptionnellement trois. La membrane est nettement verrueuse.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation ne se fait pas au-dessous de 9°. A cette température, elle se produit au bout de six jours. A 25°, température optima, les ascospores apparaissent au bout de trois jours. La température maxima est comprise entre 29° et 32°. A 29°, la sporulation s'effectue à partir du huitième jour.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit rapidement et énergiquement le saccharose. Pas de fermentation.

### Levure Op.

I. ORIGINE. — Isolée de la « fleur » d'un saucisson fabriqué avec un mélange de viande de bœuf et de porc.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — En mout de bière, à 25°, de fins grumeaux apparaissent au bout de vingt heures et se déposent sur les parois et au fond du tube. Vers la trentième heure, un voile commence à se former; il est complet en moins de quarante-huit heures. En même temps, il se forme un anneau qui remonte sur les parois du tube. Le voile ne se ride pas et demeure mince et uni. Le milieu reste longtemps louche.

A 5°, la levure donne un anneau et des îlots de voile au bout de neuf jours; le voile est complet le onzième jour. A 35°, anneau et voile n'apparaissent qu'au bout de dix jours.

Sur gélose, il se forme une trainée blanchâtre, festonnée et plissée transversalement au niveau des encoches. Les bords sont marqués par un ourlet doublé d'une mince frange qui en suit les contours.

Sur les autres milieux, les caractères sont les mêmes que ceux de la levure V.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont sphériques, isolées ou associées par deux. Leur diamètre moyen est de 4 à 5  $\mu$ .

IV. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure végète lentement à partir de 5-5°. La température maxima est située entre 36° et 37°, l'optima est comprise entre 20°-25°.

V. SPORULATION. — La copulation s'effectue le plus souvent entre une grosse cellule et une petite qui en dérive, parfois aussi entre des gamètes de dimensions peu différentes. Les asques renferment une ou, plus rarement, deux ascospores (2-3  $\mu$ ) munies d'une membrane très verrueuse.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES POUR LA SPORULATION. — Sur gélose de Gorodkowa, la température minima est située entre 8°-9°; l'optimum est à 25°, le maximum au voisinage de 29°. Les ascospores se forment en onze jours à 9°, en quatre jours à 25°.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit lentement le saccharose. Pas de fermentation.

### Levure Pp.

I. ORIGINE. — Isolée d'un fragment de muscle de porc saupoudré de sel stérilisé.

II. CARACTÈRES DES CULTURES. — En mout de bière, à 25°, la levure donne, en quatre jours, un anneau qui remonte sur les parois du tube et un voile tenu, ne présentant pas de plissement. A 5°, il ne se forme qu'un dépôt au bout de dix-huit jours. A 32°, un anneau très faible se montre le quatrième jour; le voile n'apparaît qu'au bout de sept jours. Sur carotide, la levure se comporte comme les espèces du type V. Sur gélose, on a une trainée blanche, mate, avec un raphé médian surélevé et des bords échancrés formant un ourlet doublé d'une mince frange étalée. Sur gélatine, il se forme une trainée cireuse, mate, à surface chagrinée.

III. ASPECT MICROSCOPIQUE DES CELLULES. — Les cellules sont sphériques; leur diamètre varie de 3  $\mu$  à 5  $\mu$ . Les éléments sont associés par deux ou par trois.

IV. TEMPÉRATURES LIMITES POUR LE BOURGEONNEMENT. — La levure végète très

entement à 3°-5°. La température maxima est située vers 32°-33°. L'optimum est aux environs de 25°.

V. SPORULATION. — La copulation s'opère la plupart du temps entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement. Les asques renferment une seule ascospore (2-3  $\mu$ ) à verrucosités bien marquées.

VI. TEMPÉRATURES LIMITES ET OPTIMA POUR LA SPORULATION. — La sporulation, sur gélose de Gorodkowa, ne commence qu'à partir de 9°. L'optimum est à 25°, le maximum entre 29° et 33°. Les ascospores se forment en trois jours à 25°, en six jours à 9°, en huit jours à 29°.

VII. CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — La levure invertit faiblement le saccharose et ne produit aucune fermentation.

Toutes les levures isolées par nous jusqu'ici des saucissons appartiennent au genre *Debaryomyces*, mais nous avons souvent trouvé, dans les viandes salées et les saumures, à côté de levures de ce même type, d'autres levures dont la sporulation n'a pu être obtenue. Il est vraisemblable que la recherche systématique des levures des salaisons fera découvrir encore de nouvelles espèces<sup>(1)</sup>.

(1) L'un de nous a attribué, aux levures que nous venons de décrire, un rôle dans le phénomène de la maturation des saucissons (E. CÉSARI, La maturation des saucissons. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1919). On peut se demander si les fermentations qui se produisent dans les condiments indochinois (*nuoc-mam*; *mam-lôm*; *prâhoch*; *pa-tee*) préparés avec des crevettes et des poissons salés (E. ROSÉ et H. BRÉMOND. Ces *Annales*, avril 1919) ne seraient pas dues à des levures voisines des précédentes. On sait que la fermentation du *soyou* est produite par des levures du genre *Zygosaccharomyces* (*Z. soya* et *Z. japonicus*) assez voisin des *Debaryomyces*.

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

[1] GUILLIERMOND. — Sur la copulation de *Debaryomyces globosus*. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1911.  
— Nouvelles recherches sur la sexualité des levures. *Archiv. für Protistenkunde*, 1912.

[2] KONOKOTINE. — Sur deux nouvelles levures à copulation hétérogamique : *Nadsonia elongata* et *Debaryomyces tyrocola*. *Bulletin des Travaux de l'École de Médecine des Femmes de Saint-Pétersbourg*, 1913.

[3] KLÖCKER. — Deux genres nouveaux de la famille des Saccharomycétacées. *Comptes rendus des Travaux du Laboratoire de Carlsberg*, 1909.

[4] GUILLIERMOND et PÉJU. — Sur un Champignon présentant des caractères intermédiaires entre les levures et les Endomyces. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1919.

[5] HANSEN. — Grundlinien z. Systematik d. Saccharomyceten. *Centr. f. Bakt.*, 1904. *Comptes rendus des Travaux du Laboratoire de Carlsberg*, 1904.

---

Toutes les figures ont été dessinées à la chambre claire de Zeiss, à l'aide de l'oculaire compensateur 6 et de l'objectif apochromatique à immersion homogène 1/15 de Zeiss, puis réduites de moitié (grossissement : environ 7.000).

# LES SÉRUMS ANTIPROTÉASIQUES

## LEUR SPÉCIFICITÉ

### LA RÉACTION DE L'ANTIPROTÉASE

par L. LAUNOY

#### I

Nous avons vu dans un mémoire précédent que, s'exerçant sur les protéases de *B. pyocyaneus*, *B. prodigiosus*, *V. Choleræ*, *B. proteus mirabilis*, l'action du sérum sanguin des mammifères se traduit par un affaiblissement de l'activité diastasique ; *en aucun cas d'ailleurs, la protéase bactérienne n'est inhibée*. Les protéases bactériennes se différencient ainsi de la trypsine pancréatique, dont le sérum sanguin de mammifères réalise l'inhibition (1).

Les recherches exposées dans ce mémoire ont eu pour but d'élucider les questions suivantes :

1<sup>o</sup> *Est-il possible d'obtenir artificiellement des antiprotéases bactériennes réelles, c'est-à-dire des antiprotéases dont l'action soit inhibitrice ?*

2<sup>o</sup> *Dans l'hypothèse d'un résultat positif relativement à la préparation des antiprotéases, celles-ci sont-elles spécifiques ?*

3<sup>o</sup> *Dans l'hypothèse justifiée par les faits de la spécificité de l'antiprotéase, quel est dans l'espèce antigène le champ d'action de l'antiprotéase ?*

Ces questions, nous ne sommes pas le premier à les poser. Avant nous, quatre auteurs à notre connaissance se sont avisés de les résoudre, ce sont : Von Dungern, Moreschi, Hata, Kürt Meyer.

Il résulte en bloc des observations de ces expérimentateurs

(1) L. LAUNOY. Ces *Annales*, t. XXXIII, p. 1 et p. 637, janvier et octobre 1919.

que l'injection aux animaux de produits microbiens (cultures tuées ou filtrées) *augmente* l'action antagoniste du sérum sanguin contre la protéase antigène; l'augmentation se ferait dans un sens spécifique.

A nos deux premières questions, l'expérience a donc déjà répondu dans le sens positif; la troisième n'a pas été abordée avant nous. Nonobstant les conclusions des auteurs ci-dessus, nous avons repris à pied d'œuvre l'étude des deux questions dont ils s'étaient occupés. En effet leurs conclusions, étant loin d'être adoptées par les bactériologistes, ne pouvaient donc être considérées comme acquises. Leurs recherches ont d'ailleurs été, dans la plupart des cas, d'ordre qualitatif, et ne satisfont pas l'esprit. De ces points de vue, elles devaient être reprises. Nous avons appliqué dans ce travail la méthode qui nous a déjà servi à l'étude de l'action antagoniste du sérum sanguin sur la trypsine pancréatique et sur les protéases bactériennes.

## II

### PRÉPARATION ET ÉTUDE DE L'ACTION DES SÉRUMS ANTIPROTÉASIQUES

#### A. — *Préparation.*

Nous avons préparé des anticorps contre les protéases bactériennes sur lesquelles nous avons déjà étudié l'action du sérum normal.

Dans chaque espèce bactérienne on prend comme bactérie sécrétrice de protéase le ou les échantillons sélectionnés au cours de la détermination de l'unité gélatinolytique. L'antigène sera la solution de protéase précipitée par l'alcool-éther après éloignement des corps microbiens du milieu de culture, ou bien plus simplement le filtrat de ce milieu de culture.

Nous donnons ci-dessous un protocole de préparation du sérum antiprotéasique pour chacune des protéases étudiées.

### 1<sup>o</sup> Préparation d'un sérum contre la protéase du *B. pyocyanique*.

Dans toutes nos recherches ce sont les souches *Huv* (très fluorescigène) et *Hubl* (très pyocyanogène) dont nous nous sommes servi comme sources de protéase.

Pour l'antisérum de la protéase du *B. pyocyanique*, deux cas sont à considérer :

a) *Immunisation au moyen d'une solution de protéase précipitée par l'alcool-éther.*

L'unité gélatinolytique de la solution injectée était 0 c. c. 05 ; les animaux étaient injectés sous la peau. Du 25 octobre 1918 au 9 novembre on a fait quatre injections de 2 c. c. 5; 4 cent. cubes; 5 cent. cubes; 6 cent. cubes, ces injections étaient espacées de trois ou quatre jours : l'animal était saigné cinq jours après la dernière injection.

On a noté au cours de la préparation un léger amaigrissement de l'animal; perte de 300 grammes. Au point de vue local, chaque injection est suivie d'un œdème mou qui se résorbe rapidement en laissant un nodule plus ou moins volumineux assez dur, aux points d'injection.

b) *Immunisation contre le filtrat du *B. pyocyanique* (*Huv*).*

L'unité gélatinolytique des filtrats utilisés a varié entre 0 c. c. 1 et 0 c. c. 2. Du 13 janvier au 7 février 1919, on a injecté sous la peau 24 cent. cubes de filtrat en 5 injections de : 1 c. c. 5; 3 cent. cubes; 5 cent. cubes; 6 cent. cubes; 9 cent. cubes. L'animal est saigné cinq jours après la dernière injection.

On a noté un léger amaigrissement de l'animal; localement la première injection détermine un volumineux œdème mou entretenu par les injections successives; pas d'escharre.

### 2<sup>o</sup> Préparation de sérum contre la protéase du *B. proteus M.*

Les unités gélatinolytiques des deux filtrats dont on s'est servi étaient 0 c. c. 6 pour le premier filtrat et 0 c. c. 25 pour le second. Du 13 janvier au 7 février 1919, on a fait quatre injections sous-cutanées de : 4 cent. cubes; 6 cent. cubes;

9 cent. cubes; 9 cent. cubes, l'animal a été saigné cinq jours après la dernière injection. On a noté de l'amaigrissement et localement un volumineux œdème de la paroi avec escharre rouge.

**3<sup>o</sup> Préparation du sérum contre la protéase  
du *B. prodigiosus*.**

L'unité gélatinolytique du filtrat employé était égale à 0 c. c. 2. Du 13 janvier au 1<sup>er</sup> février, on a fait quatre injections sous-cutanées de 3 cent. cubes; 2 cent. cubes; 5 cent. cubes; 3 cent. cubes; l'animal a été saigné sept jours après la dernière injection.

Au cours de la préparation, on constate un amaigrissement notable, perte de 500 grammes; localement, œdème mou. Les injections de ce filtrat étaient mal supportées, chaque injection était suivie de polypnée.

**4<sup>o</sup> Immunisation contre la protéase du *V. cholérique*.**

On s'est servi d'un filtrat de *V. cholérique* (Zarizine) dont l'unité gélatinolytique était égale à 0 c. c. 25. Du 30 avril au 10 juin on a fait quatre injections sous-cutanées espacées de sept à huit jours; chacune d'elles étant égale à 7 cent. cubes; 6 cent. cubes; 12 cent. cubes; 6 cent. cubes; la saignée a été faite six jours après la dernière injection. On note un faible amaigrissement et, à partir de la troisième injection, un œdème mou en nappe, persistant.

**B. — *Étude des sérum*s ci-dessus.**

*1<sup>er</sup> Cas : On fait agir le sérum en étude sur l'unité gélatinolytique antigène.*

*2<sup>o</sup> Cas : On fait agir ce même sérum sur des unités gélatinolytiques hétérogènes.*

On étudiait comparativement un sérum normal et le sérum préparé.

## PREMIER CAS.

ACTION CONTRE LES PROTÉASES ANTIGÈNES CORRESPONDANTES  
DU SÉRUM DES ANIMAUX IMMUNISÉS PAR LEUR EMPLOI.

a) 1<sup>o</sup> *Action du sérum de lapin normal et du sérum de lapin préparé contre la protéase du B. pyocyanique :*

Seuils . . . .	{	Sérum normal : 0 c.c. 003
		Sérum préparé : 0 c.c. 0006
Optima réels.	{	Sérum normal : pas d'optimum.
		Sérum préparé : 0 c.c. 03

Nous donnons, dans le graphique 1, un exemple de l'allure de la protéolyse par la protéase du *B. pyocyanique* en présence de sérum normal et de sérum préparé.

2<sup>o</sup> *Action du sérum de lapin normal et du sérum de lapin préparé contre la protéase (filtrat) du B. pyocyanique :*

Seuils . . . .	{	Sérum normal : 0 c.c. 002
		Sérum préparé : 0 c.c. 0005-0 c.c. 0007
Optima réels.	{	Sérum normal : pas d'optimum.
		Sérum préparé : 0 c.c. 03

Le graphique n° 2 interprète cette expérience.

b) *Action du sérum de lapin normal et du sérum préparé contre la protéase (filtrat) du B. proteus M.*

Seuil . . . .	{	Sérum normal : 0 c.c. 004
		Sérum préparé : 0 c.c. 0062
Optima réels.	{	Sérum normal : pas d'optimum
		Sérum préparé : 0 c.c. 07-0 c.c. 1

Nous donnons ici deux graphiques qui représentent l'action comparée de sérum normal et d'un sérum préparé contre l'unité gélatinolytique du *proteus M.* (graphiques 3 et 5); un troisième graphique (graphique 4) représente l'action de ces mêmes sérum sur la demi-unité gélatinolytique.

*Observation.*

Le graphique n° 3 représente l'action d'un sérum anti-protéasique conservé depuis huit mois à la glacière; le sérum témoin n'est pas celui d'un animal normal. Il a été prélevé d'un lapin ayant fait une infection expérimentale à *proteus M.* Ce sérum qui agglutinait le *proteus M.* au millième ne s'est pas

montré actif, *in vitro*, contre la protéase de ce bacille. C'est un point sur lequel nous reviendrons.

c) *Action du sérum normal de lapin et du sérum préparé contre la protéase du M. prodigiosus.*

<i>Seuils . . . .</i>	{	Sérum normal : 0 c. c. 002
		Sérum préparé : 0 c. c. 0002
<i>Optima réels.</i>	{	Sérum normal : pas d'optimum
		Sérum préparé : 0 c. c. 2

Le graphique n° 6 interprète cette expérience.

d) *Action du sérum normal de lapin et du sérum de lapin préparé contre la protéase (filtrat) de V. cholérique.*

<i>Seuils . . . .</i>	{	Sérum normal : 0 c. c. 002
		Sérum préparé : 0 c. c. 0007-0 c. c. 0008
<i>Optima réels.</i>	{	Sérum normal : pas d'optimum
		Sérum préparé : 0 c. c. 1

*Le graphique n° 7 interprète l'action du sérum préparé.* Pour le sérum normal, voir notre mémoire dans ces *Annales*, octobre 1919, graphique n° 15.

### Interprétation des faits.

*Seuils.* — La détermination des « seuils » pour les sérums préparés indique que ces valeurs sont comprises entre 0 c. c. 0002 et 0 c. c. 0007. L'activité du sérum normal comparée, *au seuil de l'action*, avec l'activité d'un sérum préparé est donc de 5 à 20 fois inférieure à celle de ce dernier.

*Optima.* — Le sérum normal de lapin exerce une légère action dépressive sur l'activité des protéases bactériennes étudiées; il n'est pas inhibiteur; *il n'y a donc pas d'optima* (voir la définition des « optima », ces *Annales*, janvier 1919, p. 10 et 24).

Le sérum d'animal préparé, au contraire, est *inhibiteur* (sérum antiprotéasiques pour les protéases du *B. pyocyanique*, du *B. proteus*, et du *V. cholérique*), ou au minimum (*B. prodigiosus*) très fortement dépresseur, nous dirons préinhibiteur.

Les optima réels sont compris entre 0,03 et 0,1 pour les sérums contre les protéases des *B. pyocyanique* et *B. proteus*. Il est dans les environs de 0,1 pour le sérum contre la protéase

du V. cholérique, il est supérieur à 0,1 pour le prodigiosus.

Il est possible que l'on puisse avoir des sérum antiprotéasiques beaucoup plus actifs que ceux que nous avons obtenus. Tels qu'ils sont ils permettent de dire avec certitude absolue que, quand on injecte sous la peau d'un lapin une protéase bactérienne, on obtient des sérum antiprotéasiques inhibiteurs pour la protéase antigène. Notre première question est donc résolue par l'affirmative.

### DEUXIÈME CAS.

#### ACTION D'UN SÉRUM ANTIPROTÉASIQUE SUR DES PROTÉASES BACTÉRIENNES HÉTÉROGÈNES. — ETUDE DE LA SPÉCIFICITÉ DES ANTI-PROTÉASES.

La spécificité d'un sérum antiprotéasique doit être envisagée en dehors de l'espèce et dans l'espèce elle-même.

Pour étudier la spécificité *en dehors de l'espèce* on fait agir tour à tour chaque sérum antiprotéasique sur des unités gélatinolytiques provenant de bactéries protéolytiques nettement différentes de la bactérie antigène.

*Nous avons étudié l'action d'un sérum normal et celle de divers sérum antiprotéasiques sur l'unité gélatinolytique d'un filtrat de *B. pyocyanique* (Huv).* Les résultats concernant cette

TABLEAU I.

NOMS DES SÉRUMS employés	TEMPS DE GEL, EN MINUTES, A 10 DEGRÉS pour des essais correspondant à l'action de quantités croissantes du sérum				
	0 c.c. 01	0 c.c. 03	0 c.c. 05	0 c.c. 1	0 c.c. 2
Sérum spécifique . . .	∞	2	2	2	2
Sérum normal . . . .	∞	∞	∞	∞	∞
Sérum antiprodigios. .	∞	∞	∞	∞	15
Sérum antiproteus . .	∞	∞	∞	∞	9
Témoin, protéase pyo- cyanique (non additionné sérum) . . .	∞	—	—	—	—

expérience sont exposés dans le tableau n° I. Il concerne une expérience de dix-huit heures à 41°.

L'infini est compté après dix minutes.

Dans l'expérience suivante (tableau II) *on fait agir dans les mêmes conditions du sérum normal et différents sérum anti-protéasiques sur l'unité gélatinolytique du Micrococcus prodigiosus.*

TABLEAU II.

NOMS DES SÉRUMS employés	TEMPS DE GEL, EN MINUTES, A 10 DEGRÉS pour des essais correspondant à l'action de quantités croissantes du sérum				
	0 c. c. 01	0 c. c. 03	0 c. c. 05	0 c. c. 1	0 c. c. 2
Sérum spécifique . . .	∞	∞	10	4	4
Sérum normal . . . .	∞	∞	∞	∞	∞
Sérum antipyocyan. .	∞	∞	∞	∞	∞
Sérum antiproteus. .	∞	∞	∞	∞	∞
Sérum anticholera . .	∞	∞	∞	∞	∞
Témoin protéase. . .	∞	—	—	—	—

*Observation.* — On constate dans cette expérience que l'essai à 0 c. c. 05, qui se gélifiait à la limite, reste gélifié pendant vingt-quatre heures au laboratoire.

Les résultats de ces expériences, tout qualitatifs qu'ils soient, sont parfaitement nets; nous les complétons au point de vue quantitatif par les expériences résumées dans les graphiques 8 et 9.

Dans l'expérience résumée par le graphique 8 on fait agir un sérum antipyocyanique sur la protéase antigène correspondante et sur les protéases des *M. prodigiosus* et *B. proteus* *M.*

Dans l'expérience résumée dans le graphique 9, on faisait agir le sérum antiprotéasique correspondant au *proteus M.* sur la protéase antigène et sur les protéases des *Micrococcus prodigiosus* et *B. pyocyanique*.

## ADDENDUM.

Nous avons également recherché l'action exercée par un sérum antiprotéasique contre la trypsine.

Les expériences sur la trypsine ont été poursuivies avec notre sérum antiprotéasique obtenu avec la protéase du *B. pyocyanique*.

Dans le graphique 10 nous donnons le résultat de nos expériences.

**Interprétation des faits.** — Ainsi les expériences détaillées ci-dessus sont concluantes ; elles permettent de répondre également par l'affirmative à notre deuxième question.

*Les sérum antiprotéasiques obtenus au moyen de protéases bactériennes sont spécifiques.*

L'action d'un sérum antiprotéasique non spécifique sur une protéase bactérienne est comparable à celle du sérum normal. Relativement à la comparaison entre l'action d'un sérum antiprotéasique et l'action d'un sérum normal sur la trypsine de pancréas de mammifères, l'expérience exposée dans le graphique 10 montre une activité plus grande sur la trypsine pour le premier sérum. Cette activité n'est d'ailleurs pas telle qu'elle revête une allure de spécificité ; nous avons eu d'ailleurs des sérum normaux qui étaient comparables à ce sérum antiprotéasique relativement à leur action sur la trypsine ; il y a toutefois là un point qu'il faudra élucider d'une façon plus complète.

Quels que soient les résultats ultérieurs, ils ne sauront en aucune façon s'opposer à notre conclusion : *les sérum antiprotéasiques sont étroitement spécifiques.*

## III

## RÉACTION DE L'ANTIPROTÉASE

Les recherches exposées dans ce paragraphe correspondent à la troisième question posée au début de ce mémoire. Nous savons maintenant que les antiprotéases bactériennes sont spé-

cifiques. Nous nous sommes demandé quel était, *dans l'espèce antigène*, le champ d'action d'une antiprotéase. En d'autres termes, l'inhibition réalisée par le sérum antiprotéasique est-elle limitée à la protéase de la souche antigène (spécificité de variété) ? S'exerce-t-elle sur un certain nombre de variétés à l'exclusion des autres (spécificité de groupe) ? Ou bien s'étend-t-elle à tous les germes possibles d'une espèce sans distinction ?

L'étroitesse bien connue de la spécificité des agglutinines, nous l'avons nous-même constaté à plusieurs reprises avec le *proteus* et le *B. pyocyanique*, suffisait à légitimer les recherches entreprises par nous dans le sens indiqué. En dehors de cette considération, le fait que dans une même espèce on trouve des germes extérieurement différenciés par certaines de leurs propriétés biologiques posait la question de l'identité des protéases dans une espèce donnée.

Nous avons trouvé dans le bacille *pyocyanique* le micro-organisme typique pour notre étude. En effet, dans cette espèce, la non-identité des différents germes est indiscutable. S'ils se trouvent reliés entre eux par la production de *pyocyanine*, ils s'écartent les uns des autres par la multiplicité de leurs sécrétions pigmentaires, du moins en apparence. Nous savons que, d'après la production des pigments, Gessard a pu définir les races : A, P, F, S, et les variétés *pyocyanogène*, *fluorescigène*, *érythrogène*, *mélanogène*, *achromogène*. Grâce à la complaisance de M. Gessard, notre excellent collègue de l'Institut Pasteur, à qui nous adressons tous nos remerciements, nous avons pu étudier, dans les meilleures conditions possibles, l'action d'un sérum antiprotéasique pour la protéase du *pyocyanique*. Ce sérum résultait de l'injection de la protéase de la souche *Huv* très *fluorescigène* et pauvre en *pyocyanine*, comme nous l'avons noté déjà. Il a été étudié sur vingt-six échantillons de *B. pyocyanique*. Dans ces vingt-six échantillons toutes les races et variétés de cette bactérie étaient représentées. Le sérum antiprotéasique s'est montré très inhibiteur pour vingt-quatre échantillons ; les deux échantillons réfractaires S et SS dégradés au point de ne plus donner de pigment que sur le milieu gélose-peptone-glycérinée étaient également dégradés au point de vue des protéases. Dans les conditions d'une protéase exagérément faible, la réaction de

l'antiprotéase perd de sa signification, au moins dans les conditions habituelles de nos expériences établies pour des unités gélatinolytiques actives. Nous ne comptons pas l'action antagoniste exercée par le sérum antiprotéasique sur ces échantillons S et SS pour lesquels des expériences de très longue durée auraient dû être instituées, sans profit pour notre démonstration. La réaction de l'antiprotéase est particulièrement intéressante lorsqu'il s'agit d'identifier des bactéries protéolytiques achromogènes. C'est ainsi que nous avons pu rattacher à l'espèce pyocyanique les échantillons E, F, OA, OF, dégradés volontairement par M. Gessard entre les mains de qui, ne donnant plus de pigment, elles donnaient encore de la protéase. Enfin nous avons vu, M<sup>me</sup> Debat-Ponsan et moi, que le sérum antiprotéasique pour la protéase du *B. pyocyanique* est *sans action sur les protéases sécrétées par des microbes fluorescents et liquéfiant n'ayant par ailleurs aucun caractère de pyocyanique*. Nous avons fait cette recherche sur trois échantillons de bactilles fluorescents. L'un d'eux avait été isolé par M. Truche d'un intestin de cheval, les deux autres provenaient des eaux, ils nous avaient été donnés par M. Lemoigne. Le fluorescent de M. Truche était très protéolytique, les échantillons de M. Lemoigne l'étaient au contraire très peu. En faisant agir des quantités croissantes de sérums antiprotéasiques sur une masse de protéases dissolvant le test habituel non pas en une heure mais seulement entre douze et dix-huit heures, nous n'avons, en aucun cas, obtenu d'inhibition, malgré les conditions si favorables à celle-ci, en raison de la faiblesse de la protéase.

Ainsi, la spécificité du sérum antiprotéasique, obtenue au moyen de la protéase d'un bacille pyocyanique, s'étend à toutes les races et variétés contenues dans l'espèce; elle se différencie nettement par sa généralité du caractère particulariste de certaines agglutinines.

*Technique de la réaction.* — Il va sans dire que la technique pour cette réaction ne diffère en aucun point de celle qui nous a servi dans les recherches publiées antérieurement par nous. Dans les meilleures conditions, on doit se servir de filtrat dont on a déterminé l'unité gélatinolytique. Toutefois, on peut aussi appliquer la technique simplifiée suivante dont nous nous

TABLEAU III.

QUANTITÉ DE SÉRUM en cent. cube	HUV.		HUBL.		MAM.		RAPH.		TOUL.		A		F		E		O. A.		O. R.	
	Sp		Su		Sp		Su		Sp		Su		Sp		Su		Sp		Su	
	Sp	Su	Sp	Su	Sp	Su	Sp	Su	Sp	Su	Sp	Su	Sp	Su	Sp	Su	Sp	Su	Sp	
0 c.c. 01 . . . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
0 c.c. 03 . . . . .	6	9	8	10	7	6	10	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
0 c.c. 05 . . . . .	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
0 c.c. 07 . . . . .	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
0 c.c. 1 . . . . .	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
0 c.c. 2 . . . . .	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
0 c.c. 3 . . . . .	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
Témoin protéase. . . . .	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Témoin sérum. . . . .	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	

Ce tableau est divisé en deux parties : la première contient les résultats obtenus avec 6 souches *Huv*, *Man*, *Toul*, *A*, *Hubl*, *Raph* ; les quatre premières de ces souches étaient surtout fluorescentes, la souche *Hubl* est très pyocyanogène, la souche *Raph* est érythrogène ; la seconde partie du tableau comprend les souches *F*, *E*, *O. A.*, *O. R.*, toutes achronomèges ; ces échantillons, comme nous l'avons dit, avaient été expérimentalement dégradés, ils ne donnaient pas de pyocyanine en aucun milieu ; seule, la réaction de l'antiprotéase a permis de les identifier comme pyocyaniques.

sommes largement servi dans nos études d'ordre qualitatif. Appliquée au *B. pyocyanique*, la technique simplifiée s'ordonne ainsi :

1<sup>o</sup> *Ensemencement* de 10 cent. cubes de bouillon-peptoné Martin avec la bactérie à différencier. Culture de quatre jours à 37° : toutes les vingt-quatre heures, rupture du voile par agitation.

2<sup>o</sup> Avec le filtrat sur bougie L3 de cette culture, *ou plus simplement avec la culture vivante elle-même*, on détermine l'unité gélatinolytique. Cette opération doit être faite très soigneusement, le volume de filtrat ou de culture définissant l'unité gélatinolytique étant variable avec les échantillons d'une même espèce ;

3<sup>o</sup> Etablir l'expérience comme il a été indiqué dans nos mémoires précédents pour la détermination de l'optimum approché.

Avoir soin, quand on se sert de la culture vivante, de ne pas ajouter au test d'épreuve une unité gélatinolytique trop chargée de germes, ce qui peut arriver avec les bactéries qui, comme le *B. pyocyanique*, en particulier, se concentrent en amas glaireux ; on évitera cet inconvénient par la centrifugation de la culture.

4<sup>o</sup> Après dix-huit heures d'étuve à 41°, les tubes sont portés dans un bain à 20°. On note le temps de gel, au sortir de l'étuve, après séjour des essais dans le bain à 20°.

On a les résultats suivants :

*Quand on fait agir le sérum préparé sur une bactérie de l'espèce antigène, la gélification du test a lieu dans un temps court (moins de dix minutes) à partir d'un volume compris entre 0 c.c. 01, 0 c.c. 03 pour les sérum préparés par nous. Si la bactérie n'appartient pas à l'espèce antigène, il n'y a pas de gélification, quels que soient la dose de sérum employé et le temps de refroidissement.*

Nous donnons ci-joint un tableau d'expériences (tableau III) qui montre, étudiée sur dix variétés de *B. pyocyanique*, l'action d'un sérum préparé avec la souche Huv, très fluorescigène. Dans ce tableau, le sérum préparé est désigné par *Sp* (sérum spécifique), le sérum normal est désigné par *Sn*. Les chiffres situés dans les colonnes *Sp* et *Sn* marquent en minutes le

temps de gélification à 20° de l'essai correspondant, le signe  $\infty$  placé dans les colonnes *Sp* et *Sn* indique que la gélification de la gélatine ne se produit pas quel que soit le temps de refroidissement ; l'indication  $\pm \infty$  veut dire que la gélification est tardive (plus de dix minutes, moins d'une heure).

Nous avons donné ci-dessus la méthode qualitative, rapide, permettant d'appliquer aisément la réaction de l'antiprotéase. On peut également, si l'on désire plus de précision dans les résultats, appliquer à la réaction de l'antiprotéase la technique quantitative (détermination de l'optimum réel) dont nous avons donné maints exemples. Les graphiques 11 et 12 montrent l'action comparée d'un sérum normal et du sérum spécifique préparé avec le filtrat (*Huv*) sur l'unité gélatinolytique de la souche *Raph* d'une part (graphique 11) et sur l'unité de la souche *Hubl* d'autre part (graphique 12).

En rapprochant les graphiques 11 et 12 des graphiques 1 et 2, on verra que l'action du sérum spécifique sur la protéase antigène (*Huv*) est identique à celle qu'il exerce sur les protéases des souches *Raph* et *Hubl*; ces recherches quantitatives complètent les recherches qualitatives du tableau III.

*Conclusions.* — Les résultats que nous venons de faire connaître indiquent que : dans l'espèce *B. pyocyanus* la protéase est identique quel que soit le germe auquel on s'adresse. *L'identité de cette protéase* est démontrée par la constance de l'action exercée par un sérum préparé avec la protéase d'un germe quelconque de l'espèce, sur toutes les protéases des différents germes de cette espèce et sur les seuls germes de celle-ci. Ce résultat permet de dire que la réaction de l'antiprotéase est susceptible d'intervenir dans la diagnose d'une espèce bactérienne.

#### CONCLUSIONS

1° L'injection sous-cutanée au lapin d'un filtrat bactérien protéolytique détermine chez cet animal la formation d'anticorps.

2° Ces anticorps sont spécifiques.

3° La spécificité d'une antiprotéase obtenue par l'injection

d'un filtrat de culture d'un bacille pyocyanique s'étend à toutes les races et variétés de ce bacille.

4<sup>o</sup> La réaction de l'antiprotéase pyocyanique permet de caractériser des germes de cette espèce, dégradés au point de vue pigmentaire mais ayant conservé la propriété de sécréter la protéase; elle permet de les séparer des fluorescents non pyocyaniques.

5<sup>o</sup> L'action exercée par un sérum antiprotéasique sur l'unité tryptique est de l'ordre de celle exercée par les sérum normaux; elle peut être, parfois, légèrement augmentée.

6<sup>o</sup> La généralité de son action sépare l'antiprotéase des agglutinines; nous avons d'ailleurs démontré que les agglutinines peuvent se former sans apparition simultanée d'antiprotéase (1). Nous nous proposons de revenir sur ce point.

10 décembre 1919.

### EXPLICATION DES GRAPHIQUES

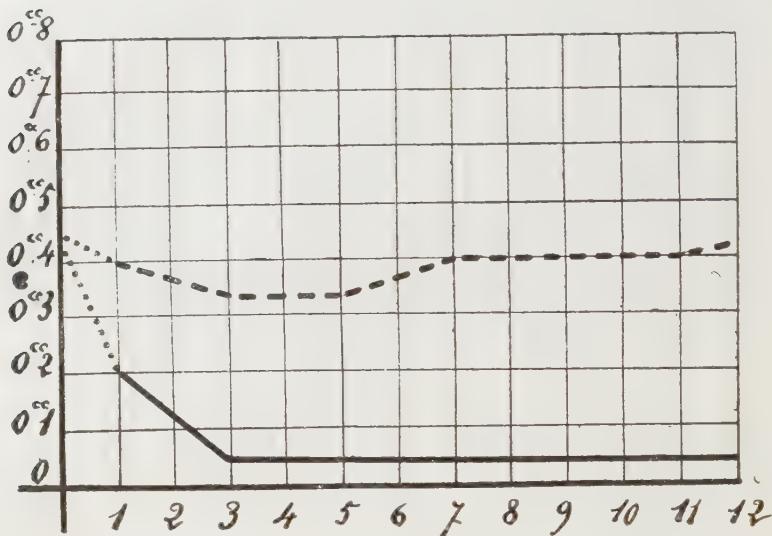
Dans tous les graphiques les chiffres portés en *ordonnées* représentent des centimètres cubes de solution décinormale de soude; les chiffres portés en *abscisses* représentent des centièmes de centimètre cube de sérum.

Dans les graphiques 1 à 7 compris, 10, 11 et 12, le trait plein est le graphique de l'action du *sérum préparé*; le trait *discontinu* est le graphique de l'action du *sérum normal*.

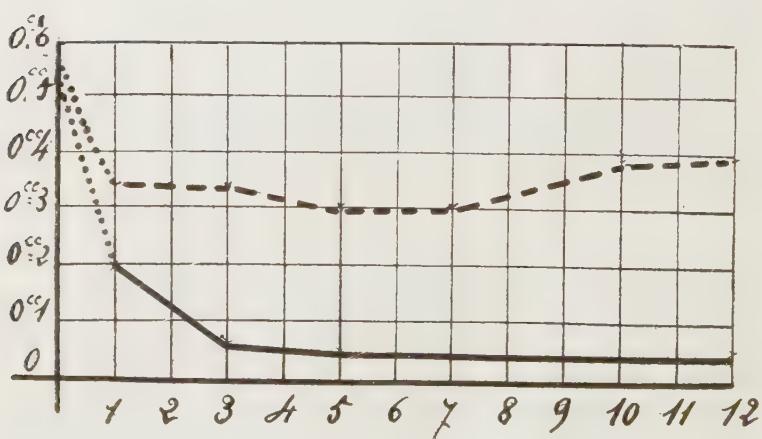
Dans les graphiques 8 et 9, les trois traits contenus dans le cadre de chaque article sont des traits pleins, puisqu'ils représentent l'action d'un

(1) L. LAUNOY et M. LÉVY-BRÜHL. *C. R. Soc. Biol.*, 1919, 6 décembre.

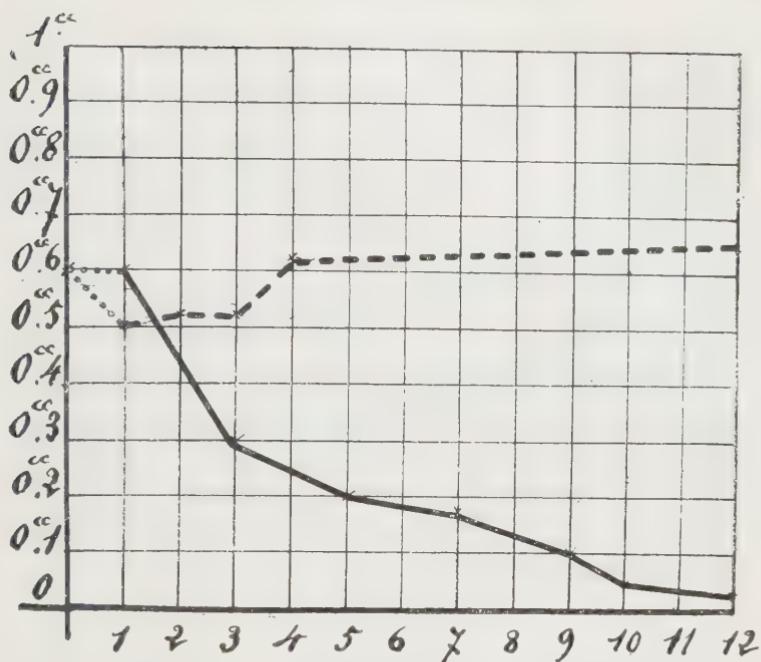
sérum préparé sur des unités gélatinolytiques bactériennes. Les lettres  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  définissent chacun des graphiques particuliers renfermés dans le cadre commun.



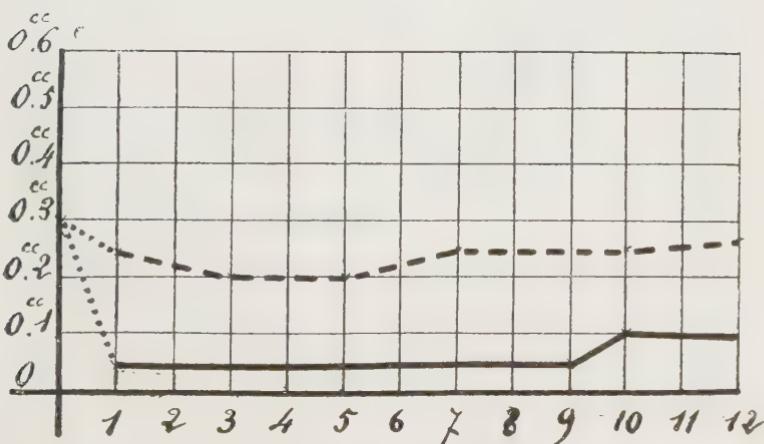
GRAPHIQUE 1. — Action d'un sérum normal et d'un sérum spécifique sur l'unité gélatinolytique de *B. pyocyanique* (Huv).



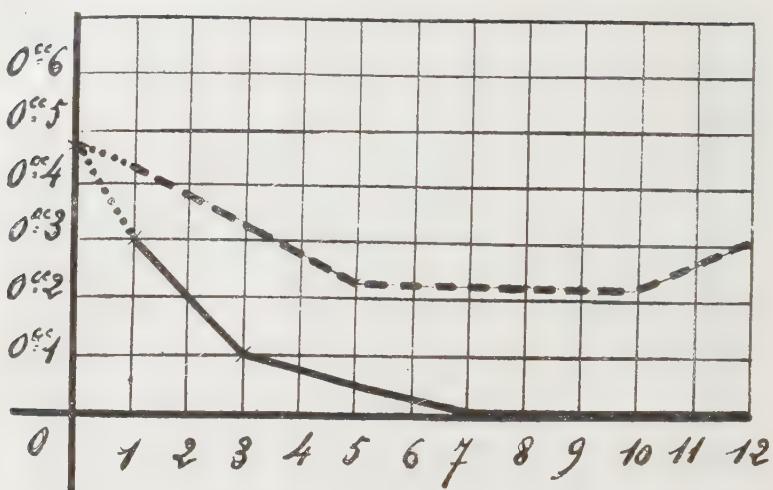
GRAPHIQUE 2. — Action d'un sérum normal et d'un sérum spécifique sur l'unité (filtrat) gélatinolytique de *B. pyocyanique* (Huv).



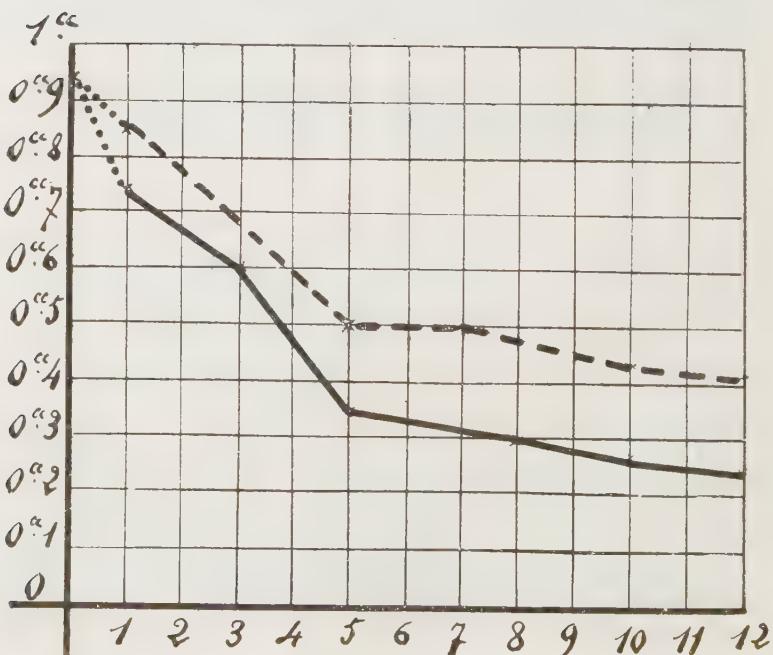
GRAPHIQUE 3. — Action d'un sérum normal et d'un sérum spécifique sur l'unité gélatinolytique d'un filtrat de *B. Proteus M.*



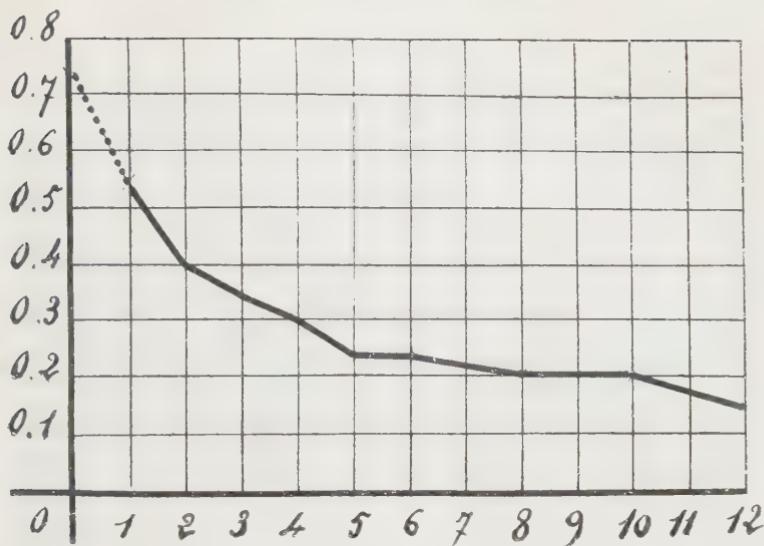
GRAPHIQUE 4. — Action d'un sérum normal et d'un sérum spécifique sur la demi-unité gélatinolytique d'un filtrat de *B. Proteus M.*



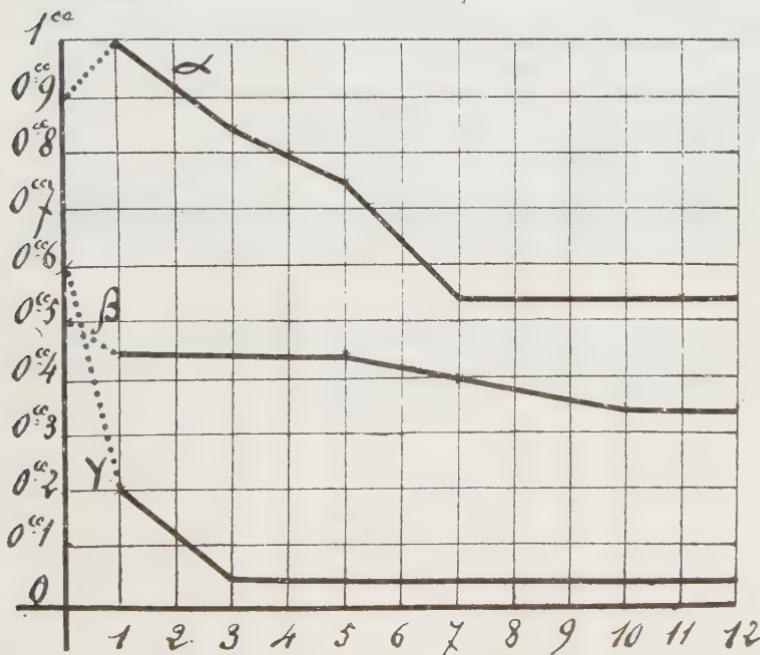
GRAPHIQUE 5. — Action d'un sérum normal et d'un sérum spécifique sur l'unité gélatinolytique d'un filtrat de *B. Proteus M.*



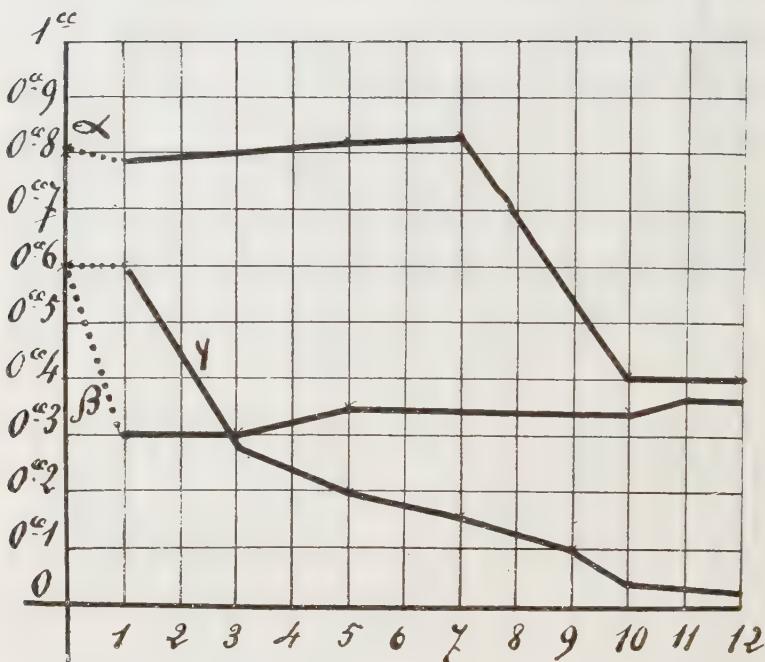
GRAPHIQUE 6. — Action d'un sérum de lapin normal et d'un sérum spécifique sur l'unité gélatinolytique de *M. prodigiosus*.



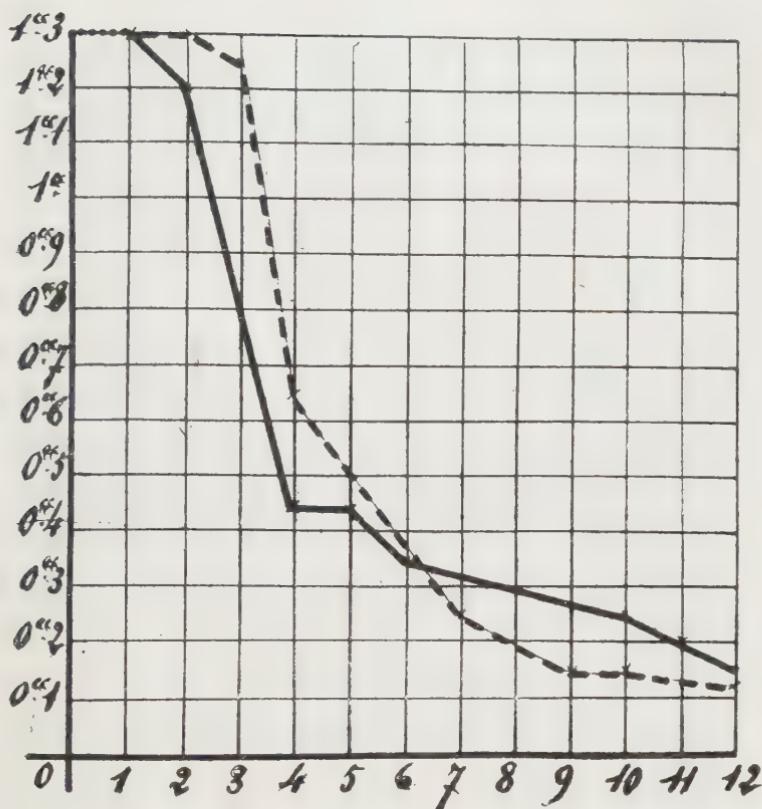
GRAPHIQUE 7. — Action d'un sérum spécifique sur l'unité gélatinolytique de *vibrio cholérique*.



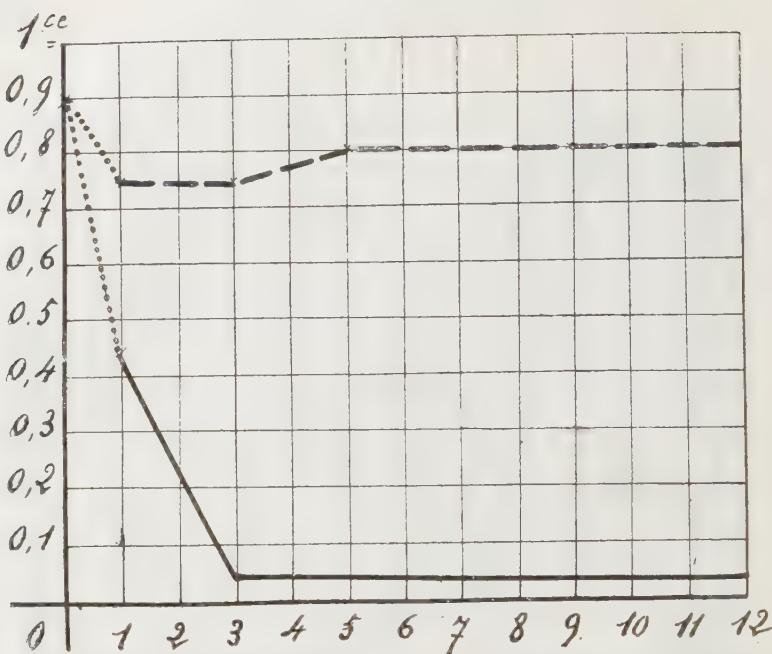
GRAPHIQUE 8. — Action d'un sérum préparé contre la protéase du *B. pyocyaneus* sur : α) l'unité gélatinolytique de *M. Prodigiosus*; — β) l'unité gélatinolytique de *B. Proteus* M; — γ) l'unité antigène.



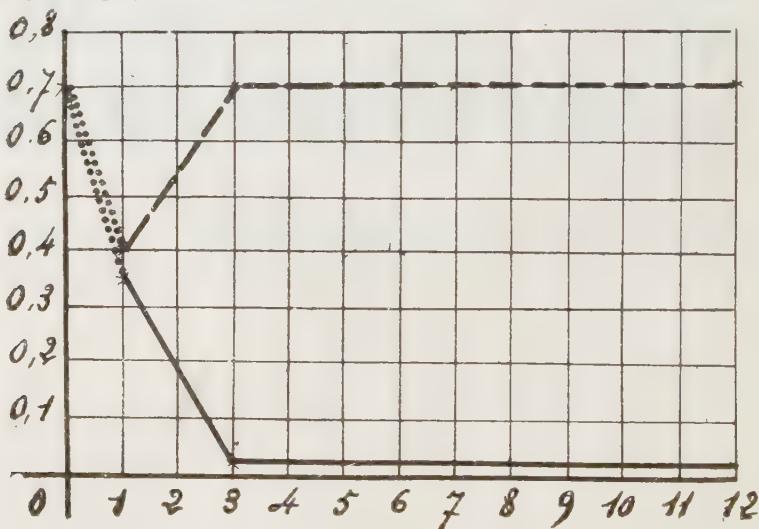
GRAPHIQUE 9. — Action d'un sérum préparé contre la protéase du *Proteus M-*, sur :  $\alpha$ ) l'unité gélatinolytique du *M. prodigiosus*; —  $\beta$ ) l'unité gélatinolytique du *B. pyocyanique*; —  $\gamma$ ) l'unité gélatinolytique antigène.



GRAPHIQUE 10. — Action d'un sérum normal de lapin et d'un sérum anti-pyocyanique sur l'unité tryptique.



GRAPHIQUE 11. — Action d'un sérum normal de lapin et d'un sérum anti-pyocyanique (antigène Huv) contre l'unité gélatinolytique de *B. pyocyanique* antigène Raph.



GRAPHIQUE 12. — Action d'un sérum normal de lapin et d'un sérum anti-pyocyanique (antigène Huv) contre l'unité gélatinolytique de *B. pyocyanique* antigène Hubl.

# DE LA PATHOGÉNIE DU CHOLÉRA

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

## LA " PÉRITONITE CHOLÉRIQUE " DU COBAYE

Par le professeur G. SANARELLI

Directeur de l'Institut d'Hygiène de l'Université de Rome

(avec la planche I.)

### 1. — Les phases successives du processus péritonéal mortel.

Dans notre premier mémoire, nous avons signalé le cas de pas mal de savants qui ont prétendu expliquer le mécanisme pathogénique du choléra humain d'après le processus mortel de la péritonite vibrionienne chez le cobaye.

Nous avons même montré les raisons qui départagent d'une façon inconciliable les opinions exprimées par les auteurs sur ce sujet.

Les nouvelles données expérimentales acquises dans notre premier mémoire nous permettront de mieux comprendre le processus compliqué, qui nous occupe, en aplanissant les contradictions qui apparaissaient jusqu'ici comme irréductibles entre les différentes constatations bactériologiques des auteurs et les interprétations pathogéniques à qui elles donnaient origine.

L'étude comparative et méthodique de ce qui se passe simultanément dans la sérosité péritonéale et dans les plis de l'épiploon des cobayes ayant reçu dans le péritoine une culture entière de vingt-quatre heures de vibrion de l'Isonzo sur gélose — qui est une dose sûrement mortelle — nous permet de pénétrer plus avant dans l'explication du processus en question.

Dans le précédent mémoire, on trouvera exposée la technique que nous avons suivie dans cette nouvelle série d'expériences :

COBAYE I, de 250 grammes. — Injection péritonéale d'une culture de vibrions de 24 heures sur gélose. Sacrifié trente minutes après, par section du bulbe.

A l'ouverture de l'abdomen on rencontre une certaine quantité de liquide transparent; tout le reste est normal.

Ensemencements sur gélose :

Du péritoine : voile continu de vibrions.

Du sang : innombrables colonies de vibrions.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — Quantité innombrables de vibrions dont beaucoup transformés en de petites granulations. Quelques cellules endothéliales, beaucoup d'hématies, pas de leucocytes.

*Examen de l'épiploon.* — Légère diapédèse le long des parois de quelques capillaires sanguins, avec un faible afflux de polynucléaires. Les vibrions sont répandus sur toute la surface de l'épiploon; leur plus grande partie est, cependant, transformée en de petites sphérolites, groupées parfois en grappes épaisses semblables à celles des staphylocoques.

Ceci prouve que les éléments cellulaires du péritoine ont diffusé très rapidement leurs produits solubles de défense dans l'exsudat qui est naturellement, on le sait, dépourvu de principes bactériolytiques.

Au bout de trente minutes, la phagocytose est insignifiante en effet, mais insignifiante pour le nombre des polynucléaires intervenus non à l'égard de l'activité de ceux-ci, qui est au contraire très grande. Les nombreux vibrions qu'ils renferment, presque déjà tous transformés en granulations, le prouvent.

La mobilisation tardive ou manquée des polynucléaires semble cependant largement compensée par l'intervention apparemment très accusée des cellules endothéliales du péritoine. Beaucoup de ces cellules, gros noyaux vésiculaires, sont déjà, à ce moment, remplies de vibrions et de granulations. Il est vraisemblable, cependant, que ces cellules aussi sont à même d'élaborer et de diffuser des substances spécifiques bactéricides à l'instar des leucocytes avec qui elles sont d'ailleurs apparentées, étant comme eux de nature conjointive.

En attribuant à ces cellules cette fonction adjuvante ou auxiliaire, on s'explique aisément comment une si riche et si précoce production de granulations vibrioniques peut coïncider avec la présence d'un nombre si réduit de leucocytes.

**COBAYE II**, de 250 grammes. — Injection péritonéale d'une culture de vibrions. Sacrifié une heure après.

A l'ouverture de l'abdomen, on constate un abondant exsudat limpide. Les intestins sont normaux.

Ensemencements sur gélose :

Du péritoine : voile continu de vibrions.

Du sang : de très nombreuses colonies.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — Quelques rares lymphocytes, une très grande quantité de vibrions et de granulations.

*Examen de l'épiploon.* — La diapédèse est toujours très faible; on note, cependant, quelques essaims de globules blancs appliqués sur les capillaires sanguins.

L'aspect général des préparations témoigne encore de l'absence presque complète de réaction leucocytaire. Celle-ci se borne à quelques polynucléaires éparsillés sur le feuilletté épiploïque regorgeant de vibrions et de granulations. On remarque, en outre, beaucoup de cellules endothéliales chargées semblablement de vibrions et de granulations de différentes dimensions. On commence, d'autre part, à constater des vibrions formant des

groupes très abondants, de petites chaînes ou des couples, preuve évidente d'une récente multiplication.

Plusieurs canalicules lymphatiques sont déjà renplis de vibrions.

**COBAYE III**, de 250 grammes. — Injection péritonéale d'une culture sur gélose. Sacrifié deux heures après.

A l'ouverture de l'abdomen, on trouve une abondante récolte de liquide clair. L'intestin est légèrement congestionné.

Ensemencement sur gélose :

Du péritoine : voile de vibrions.

Du sang : beaucoup de colonies de vibrions.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — Beaucoup de vibrions et de granulations, souvent réunis en de petits amas. Pas d'éléments cellulaires.

*Examen de l'épiploon.* — Les vibrions et les granulations sont toujours très abondants : les amas de granulations dominent particulièrement par leur nombre et l'extension. On observe, également, beaucoup de vibrions par couples, en forme de longs filaments ou de spirilles. Ce qui est la démonstration évidente de la multiplication des vibrions, se réalisant malgré les conditions vraisemblablement défavorables du milieu, chargé, sans nul doute, d'alexine.

Beaucoup de vaisseaux et culs-de-sac lymphatiques regorgent de vibrions et de granulations ; ces dernières abondent particulièrement.

Un certain nombre de lymphocytes inertes. Faible nombre de polynucléaires en pleine activité phagocytaire, c'est-à-dire remplis de granulations.

**COBAYE IV**, de 250 grammes. — Injection péritonéale d'une culture sur gélose. Sacrifié trois heures après.

A l'ouverture de l'abdomen, on constate le volume habituel de liquide clair. L'intestin et l'épiploon ont l'aspect normal.

Ensemencements sur gélose :

Du péritoine : voile de vibrions.

Du sang : beaucoup de colonies de vibrions.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — On remarque une évidente raréfaction des vibrions qui apparaissent, d'ailleurs, bien développés, réunis par couples ou parfois en forme de filaments. Les granulations sont moins nombreuses que les vibrions ; elles paraissent plus grosses qu'à l'habitude. Leur diamètre est le double de la grosseur des vibrions. Absence d'éléments cellulaires.

*Examen de l'épiploon.* — Quantité énorme de vibrions et de granulations de toutes dimensions. Le nombre des granulations dépasse de beaucoup celui des vibrions. Les granulations aussi bien que les vibrions forment pèle-mêle de grands amas irréguliers rappelant l'image des nébuleuses du ciel. Absence totale de phagocytes.

**COBAYE V**, de 250 grammes. — Injection péritonéale d'une culture sur gélose. Sacrifié six heures après.

Dans la cavité péritonéale, on rencontre le volume habituel de liquide clair. Les intestins sont normaux.

Ensemencements sur gélose :

Du péritoine : voile de vibrions.

Du sang : 12 colonies de vibrions.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — Le nombre des vibrions est encore

plus diminué ; les granulations, au contraire, sont devenues plus nombreuses. Elles forment, souvent, de petits amas. Pas d'éléments cellulaires.

*Examen de l'épiploon.* — A l'état frais, simplement étendu sur un verre porte-objet, on observe par-ci par-là, même à l'œil nu, à la surface de l'épiploon, de petites saillies irrégulières, semblables à de petites aggrégations d'exsudats fibrineux, qu'on ne déplace pas avec une aiguille. En les examinant à faible grossissement (Obj. n° 2, Oc. 3), on voit qu'elles sont constituées par des poches de vaisseaux lymphatiques, excessivement dilatés, gonflés, variqueux, formant hernie à travers le voile membraneux. Ces lymphatiques ont pris les formes les plus bizarres, de besaces, saucisses, chapelets, cordons noueux, etc. Le long des capillaires sanguins, ces cordons lymphatiques sont gonflés à tel point qu'ils apparaissent comme les berges d'un canal au fond duquel s'écoule ainsi endigué le flot rouge du sang.

Touchés et lacérés avec la pointe d'une aiguille, ces ampoules, ces aspects variqueux des capillaires lymphatiques accusent une résistance élastique assez tenace. Les préparations par frottis, colorées, montrent que leur extraordinaire contenu est constitué entièrement de leucocytes et de granulations, de ces dernières surtout. La réaction de la fibrine (méthode de Weighert) est négative.

*Examen de l'épiploon coloré.* — A faible grossissement (Obj. 4, Oc. 4), les cordons lymphatiques, gonflés et ectasiques, présentent un aspect tellement caractéristique qu'ils paraissent comme injectés avec de la gélatine colorée en bleu. Examinés à de forts grossissements, ils apparaissent plus que remplis, regorgeant d'un nombre extraordinaire de granulations vibrioniennes, parmi lesquelles on remarque quelques rares vibrions intacts et beaucoup de polynucléaires. Ces derniers sont particulièrement abondants, ainsi que les granulations le long des capillaires lymphatiques. Tout le réseau de l'épiploon présente cet aspect : il apparaît comme injecté par une épaisse suspension de polynucléaires. Au milieu des innombrables granulations, répandues à foison sur toute la surface de l'épiploon, qui en farcissent littéralement l'épaisseur, on rencontre quelques groupes de vibrions, ayant tous les caractères d'une récente multiplication. En dehors des lymphatiques, à proximité des capillaires sanguins, on rencontre quelques polynucléaires, qui ont l'apparence de ne pas prendre part à la lutte ; on les dirait paralysés. Autour d'eux, les vibrions et les granulations qu'ils devraient phagocytter sont innombrables.

**COBAYE VI**, de 250 grammes. — Injection péritonéale d'une culture sur gélose. Sacrifié dix heures après.

Abondant exsudat dans le péritoine. Intestin légèrement diarrhéique.

Ensemencements sur gélose.

Du péritoine : de très nombreuses colonies.

Du sang : 4 colonies de vibrions.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — Quelques granulations et des vibrions encore plus rares. De rares lymphocytes isolés ou groupés par 4 à 12. Sur beaucoup de champs du microscope, on ne voit plus de granulations, ni de vibrions, ni de lymphocytes. Pas de polynucléaires.

*Examen de l'épiploon.* — Il s'est produit déjà un afflux imposant de leucocytes dans les parois des capillaires sanguins. Quelques-uns de ces capillaires pourraient être comparés à des sarments dépouillés des feuilles mais chargés de grappes de raisins ; les grappes représentant les essaims de leucocytes qui sortent en abondance des réseaux capillaires. Les

polynucléaires sont largement répandus sur toute la surface de l'épiploon. Cependant, ils ne semblent pas chercher à phagocytter les vibrions. La plus grande partie d'eux apparaissent ainsi inertes, comme épuisés, incapables de toute fonction. La phagocytose est de la sorte très limitée, mais elle existe néanmoins, ainsi qu'en témoignent de très grands amas de polynucléaires en pleine digestion de vibrions, mêlés à d'épais nuages de poussière chromatique constituée d'innombrables granulations vibrionniennes de toutes dimensions. On remarque, enfin, quelques lymphatiques replets de polynucléaires, de vibrions et de granulations.

**CORAYE VII**, de 270 grammes. — Injection péritonéale d'une culture de vibrions sur gélose. Mort au bout de treize heures.

A l'autopsie, abondant exsudat, transparent, dense et filant dans le péritoine. Intestin congestionné et diarrhéique. Les parois de l'estomac sont très injectées. Les amas adipeux de l'épiploon sont colorés; l'épiploon apparaît vascularisé et tacheté de points hémorragiques.

Ensemencements sur gélose :

Du péritoine : beaucoup de colonies de vibrions.

Du sang : 7 colonies de vibrions.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — Un certain nombre de lymphocytes; quelques polynucléaires sans vibrions et sans granulations; absence de phagocytose; quelques granulations isolées ou assemblées en petits groupes avec quelques vibrions intacts.

*Examen de l'épiploon.* — La surface est recouverte par une très grande quantité de polynucléaires plus ou moins chargés de granulations. La phagocytose est devenue plus active et tend à accomplir un travail vraiment efficace, bien que lent. Les granulations qu'on rencontre sont de beaucoup moins nombreuses que dans les cas précédents : signe évident que l'intervention des polynucléaires, quoique tardive, a accompli une certaine besogne. La raréfaction progressive des granulations est indiscutable. Même les vibrions intacts deviennent de plus en plus rares; on en rencontre, cependant, dont quelques-uns, par leur disposition en couples ou leur forme en filament ou en spirille, accusent leur récente multiplication. Dans les canalicules lymphatiques, on observe encore de grandes quantités de polynucléaires mêlés à des granulations et à des vibrions. L'examen de la sérosité péritonéale à l'ultramicroscope démontre que ces granulations sont immobiles, tandis que les vibrions gardent leur mobilité et leur vitesse de translation normales.

**COBAYE VIII**, de 300 grammes. — Injection péritonéale d'une culture sur gélose. Mort en dix-huit heures.

A l'ouverture de l'abdomen, on rencontre une petite quantité d'exsudat transparent, liquide, muqueux. Les intestins sont congestionnés et diarrhéiques. Epiploon de coloration rose, très hypérémié.

Ensemencements sur gélose :

Du péritoine : 12 colonies de vibrions.

Du sang : négatif.

*Examen de la sérosité péritonéale.* — Beaucoup de polynucléaires et beaucoup de lymphocytes. On ne décèle ni de vibrions, ni de granulations; mais on y rencontre quelques phagocytes renfermant des granulations de dimensions différentes.

*Examen de l'épiploon.* — Les polynucléaires sont devenus encore plus

abondants ; toute la membrane épiploïque en est recouverte. Quelques-uns d'entre eux renferment des granulations vibrionniennes. La défense phagocytaire s'est franchement intensifiée et a atteint une grande efficacité. En effet, le champ est presque débarrassé de granulations libres et de vibrions. Même le réseau lymphatique apparaît farci de polynucléaires renfermant quelques rares granulations mais pas un seul vibrion. L'examen des préparations donne ainsi l'impression que le processus péritonéal est désormais jugulé. Si on ajoute à cette impression le résultat des ensemenements de la sérosité péritonéale aussi bien que du sang, on ne parvient pas au prime abord à s'expliquer comment il se fait que le cobaye est mort alors même que l'infection paraît vaincue.

Cette apparente contradiction entre l'évolution anatomo-pathologique et bactériologique du processus local et l'issue de la maladie a besoin d'être éclaircie.

Nous nous trouvons, en effet, devant cette conclusion paradoxale : Ce cobaye succombe à l'infection au moment même où il était sur le point d'être entièrement quitte des vibrions injectés dans son péritoine, grâce à l'intervention, tardive il est vrai, des phagocytes.

## 2. — Vibrionémie précoce et barrage phagocytaire tardif.

Il a été toujours affirmé, et on croit généralement, que chez les animaux qui meurent à la suite d'une infection très aiguë, la phagocytose ne peut pas intervenir.

Nous avons vu, au contraire, que dans la péritonite cholérique avec issue rapidement mortelle, la phagocytose entre en scène, soit même avec une grande lenteur, mais avec d'indiscutables résultats locaux.

Un fait analogue a été observé par Werigo (1), dans l'infection charbonneuse mortelle du lapin, mais avec cette différence : dans la maladie charbonneuse mortelle du lapin, la phagocytose apparaît dans les premières phases et s'arrête ensuite ; dans la péritonite cholérique du cobaye, au contraire, elle entre en jeu dans une phase déjà avancée du processus morbide et gagne toujours davantage d'intensité jusqu'à la mort.

Comment se développe-t-il donc, ce processus morbide ?

Nous allons en résumer les différentes phases, telles qu'elles résultent des faits établis dans cette dernière série d'expériences.

L'injection d'une dose mortelle de vibrions dans le péritoine

(1) Développement du charbon chez le lapin. *Ces Annales*, 1894, p. 4.

du cobaye a, tout d'abord, comme effet immédiat la soudaine et abondante irruption des vibrios eux-mêmes dans le torrent circulatoire. La vibronémie qui en résulte est habituellement beaucoup plus rapide et imposante que celle qui se produit à la suite d'une injection péritonéale d'une dose non mortelle.

En effet, après cinq minutes seulement, les colonies de vibrios qui se développent sur la surface d'un tube de gélose ensemencé par une seule goutte de sang sont déjà innombrables. Cette intense vibronémie dure pendant plus d'une heure. Déjà à partir de la deuxième ou troisième heure, les vibrios diminuent rapidement de la circulation jusqu'à atteindre un nombre excessivement petit ou à disparaître entièrement au delà de la douzième heure jusqu'à la mort.

Un simple regard au tableau suivant, dans lequel sont consignés schématiquement les résultats de quelques-unes des expériences, permettra d'apprécier la vitesse et l'intensité avec laquelle l'invasion du sang se réalise, selon la quantité des vibrios introduits dans le péritoine :

**Cobayes neufs injectés dans le péritoine.**

ENSEMLEMENT DU SANG sur des tubes de gélose effectués	AVEC 1/3 DE CULTURE (dose non mortelle)		AVEC UNE CULTURE (dose mortelle)	
	1 <sup>o</sup> cobaye 380 gr. Nombre de colonies	2 <sup>o</sup> cobaye 300 gr. Nombre de colonies	3 <sup>o</sup> cobaye 365 gr. Nombre de colonies	4 <sup>o</sup> cobaye 300 gr. Nombre de colonies
	0	0	0	0
Immédiatement après . . . . .	0	0	275	100
Après 3 minutes . . . . .	0	50	∞	∞
— 5 minutes . . . . .	1	100	∞	∞
— 15 minutes . . . . .	45	∞	∞	∞
— 20 minutes . . . . .	60	∞	∞	∞
— 30 minutes . . . . .	70	∞	∞	250
— 1 heure . . . . .	120	∞	∞	170
— 2 heures . . . . .	4	80	70	45
— 3 heures . . . . .	36	37	18	30
— 6 heures . . . . .	2	45	9	18
— 12 heures . . . . .	1	3	2	7

Or, particulièrement, d'après les expériences de Bordet (1)

(1) Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. Ces *Annales*, 1895, p. 462.

et de Levaditi (1), on sait que la pénétration dans le sang circulant d'une certaine quantité de vibrions provoque la disparition des leucocytes. Ces derniers, par l'effet d'une chimiotaxie négative, se réfugieraient dans les organes, notamment dans les poumons, où se produirait dans des conditions très favorables le phénomène de la phagolyse et partant la mise en liberté du complément ou alexine destiné à provoquer la transformation granulaire des vibrions.

La leucopénie circulatoire déterminée par l'irruption massive des vibrions dans le sang explique donc pourquoi, à la suite d'une injection péritonéale de vibrions à dose élevée (mortelle), au lieu d'un afflux de leucocytes pour défendre l'épiploon — comme il arrive après l'injection d'une petite dose — c'est le phénomène opposé qui a lieu.

En résumé, les petites doses provoquent la diapédèse épiploïque, c'est-à-dire l'intervention de la défense leucocytaire ; les hautes doses, au contraire, jouent le rôle d'agressine, c'est-à-dire, au lieu d'attirer, repoussent et retiennent loin les leucocytes.

Ces agressines, étudiées par Bail (2), ne seraient, au fond, d'après Sarrerbeck (3) que les endotoxines des microbes eux-mêmes.

Voilà donc de quelle façon la dose des microbes introduits dans le péritoine — et, en certains cas, peut-être aussi leur degré de toxicité — en provoquant ou non au niveau de l'épiploon un afflux de leucocytes peut décider, dès le début, de l'issue de l'infection.

Nous nous occuperons plus tard du sort des vibrions qui s'échappent dans le torrent circulatoire. Pour le moment, nous allons suivre ceux qui restent dans le péritoine.

Se borner à l'étude de la sérosité péritonéale, comme il a été pratiqué jusqu'ici, serait poursuivre une œuvre vaine. Même chez les cobayes qui reçoivent des doses mortelles, l'examen exclusif de l'exsudat ne donne que des résultats insignifiants

(1) Sur l'état de la cytose dans le plasma des animaux, etc. Ces *Annales*, 1901, p. 824.

(2) Untersuchungen über Typhus und Choleraimmunität. *Arch. für Hygiene*, 1905, vol. 52, fasc. 3-4.

(3) Experimentelle Studien über Phagocytose. *Zeitsch. für Immunitätsforschung u. exp. Therapie*, 1909, vol. 3, p. 731.

ou nuls. C'est sur l'épiploon que se développent toutes les phases du processus morbide et c'est à ce niveau qu'elles doivent être suivies méthodiquement à l'aide du microscope.

Nous avons établi que l'injection de doses mortelles, c'est-à-dire abondantes de vibrions, ne provoque pas l'appel de leucocytes dans le péritoine.

Dans ce cas, en effet, fait défaut l'immédiat et imposant afflux de leucocytes de barrage qui est, au contraire, provoqué pour les doses non mortelles. Mais la diapédèse épiploïque, telle qu'on l'observe dans des conditions normales, ne s'arrête pas tout de suite. Pendant quelque temps, les leucocytes, bien qu'en nombre assez limité, continuent de se porter sur les plis de l'épiploon et, malgré qu'ils aient affaire à de grandes quantités de vibrions, manifestent une action phagocytaire d'une certaine activité.

Ils sont secondés, non seulement par les polynucléaires, qui étaient déjà dans le péritoine au moment de l'injection et qui se précipitent immédiatement après sur l'épiploon, mais aussi par les cellules endothéliales de la séreuse.

Cette hyperactivité cellulaire détermine une hyperproduction de complément et, par là, la transformation granulaire d'une très grande quantité de vibrions.

Malgré cela, à cause du barrage insuffisant établi par les polynucléaires, un grand nombre de vibrions et de granulations vibriennes, ainsi qu'en font foi les ensemencements du sang, parviennent à se frayer un passage dans les capillaires lymphatiques et, de là, dans la circulation générale.

Les propriétés bactéricides acquises par le milieu péritonéal, bien que capables de déterminer la transformation granulaire en masse des vibrions, n'arrêtent ni leur exode vers le sang, ni leur faculté germinative.

Peu à peu, ils se reprennent et recommencent à se multiplier, pendant que, déjà, le faible concours des phagocytes diminue de plus en plus jusqu'à s'éteindre.

Aussi, nous sommes bien loin de cette hypothétique destruction générale des vibrions, sur laquelle Pfeiffer et ses élèves ont bâti tout le compliqué échafaudage pathogénique de ce processus morbide expérimental.

Après trois heures, toute activité phagocytaire est éteinte

tandis que la transformation granulaire extracellulaire des vibrios augmente de plus en plus jusqu'à devenir totale.

En effet, au bout de six heures, on ne rencontre plus que des granulations libres et, ce qui est encore plus intéressant, leur nombre, malgré l'exode ininterrompu et abondant à travers le réseau lymphatique, au lieu de diminuer, semble augmenter. Il est très vraisemblable que, nonobstant les conditions du milieu, de nouveaux vibrios prendront naissance dans les granulations, se transformant immédiatement, à leur tour, en de nouvelles granulations. J'ai observé, en effet, que les vibrios cultivés pendant un jour dans du sérum anticholérique et ensuite repiqués sur gélose ne se montrent pas, comme on pourrait le penser,<sup>1</sup> plus aguerris ou mieux habitués à l'action bactéricide de même sérum.

Au contraire, remis en contact avec du sérum anticholérique, ils apparaissent beaucoup plus faibles et, ainsi beaucoup plus sensibles au phénomène de la transformation sphéruleuse et de la bactériolyse.

Cela explique, peut-être, pourquoi, autour de la sixième heure, nonobstant l'inviscible quantité de granulations répandues dans le péritoine et qui farcissent le réseau lymphatique, l'ensemencement du sang circulant trahit une décroissance sensible de la vibriose.

Il est très probable que les vibrios qui ont pénétré dans le sang à l'état de granulations au lieu d'être à l'état normal, sont plus rapidement saisis par les phagocytes vasculaires.

Cela n'empêche pas, bien entendu, que, même à l'état de granulations éteintes, ils ne soient capables d'exercer leur pouvoir toxique immédiat sur quelques organes et tissus d'élection. C'est ce que nous verrons plus tard. De toute façon, les ensemencements du sang donnent l'illusion que le passage des germes dans la circulation est en passe de cesser.

Pourtant, à ce moment, les lymphatiques se montrent plus que jamais chargés de granulations vibriennes, au point qu'ils apparaissent dilatés, agrandis, et si démesurément qu'on les reconnaît à l'œil nu, aussi bien à l'état frais que dans les préparations fixées et colorées.

Il n'est pas possible que ces ectasies lymphatiques de l'épipoon, revêtant les formes les plus irrégulières et bizarres,

soient passées inaperçues à tant d'expérimentateurs. Elles ont dû leur sembler être des dépôts de fibrine ou des flocons d'exasudat purulent.

Aussi, cette phase du processus morbide, caractérisée par la complète inertie phagocytaire dans la cavité péritonéale, coïncide, au contraire, avec le réveil des polynucléaires vasculaires et leur début de mobilisation même vers l'épiploon.

Ayant été accoutumés peu à peu à l'action inhibitrice des agressines, ces leucocytes sont en état, désormais, d'accourir là où leur présence est réclamée. En effet, à la dixième heure, l'examen de l'épiploon atteste la reprise de la diapédèse. Ce sont des essaims de polynucléaires qui débouchent des parois des capillaires sanguins de l'épiploon et se répandent dans toutes les directions, phagocytant abondamment les granulations et les rares vibrions qui y restent.

Mais leur intervention tardive, bien qu'au prime abord elle apparaisse efficace, reste au-dessous du besoin. Les ensemencements de la sérosité péritonéale, à ce moment, accusent néanmoins une indiscutable raréfaction des germes vivants, preuve évidente de leur activité destructrice.

Malgré cela, l'état du cobaye empire et son hypothermie ne fait qu'augmenter.

### 3. — Explication des tableaux bactériologiques du péritoine.

L'épuration microbienne progressive accomplie par les phagocytes de la cavité péritonéale chez les cobayes ayant reçu des doses mortelles de vibrions n'a donc pas d'action sur l'issue finale de la maladie. Ils meurent plus tôt ou plus tard, sans être influencés par la marche du processus péritonéal ou du succès plus ou moins décisif obtenu localement par l'afflux tardif des phagocytes.

Ce ne sont plus les vicissitudes du processus local qui modifient l'évolution de la maladie. Selon la durée de celle-ci, la phagocytose du péritoine parvient plus ou moins à réaliser localement son but qui est d'atteindre tous les germes cholériques.

En effet, en ce moment, si la mort est prompte — dans notre

cas, où la mort survient treize heures après — l'épuration du péritoine est seulement partielle. L'épiploon présente encore le spectacle d'une lutte très vive entre phagocytes et vibrions ; le réseau lymphatique est toujours traversé par de nombreux vibrions au milieu de polynucléaires et les ensemencements de la lymphe donnent lieu à un certain nombre de colonies.

L'ensemencement positif du sang du cœur démontre également que le foyer péritonéal n'est pas encore entièrement éteint et en même temps que le barrage des lymphatiques n'est pas non plus complet.

Mais si la mort est moins prompte — dans la dernière expérience consignée plus haut, la mort s'est produite au bout de dix-huit heures — le processus phagocytaire, en gagnant progressivement d'intensité, parvient à accomplir entièrement l'épuration locale, à arrêter toute multiplication ultérieure de germes.

Il s'ensuit que, dans ces cas, les ensemencements du sang du cœur demeurent stériles et ceux de la lymphe péritonéale ne donnent lieu qu'au développement de rares colonies.

Tel est le tableau bactériologique habituel, je dirais presque classique, de la péritonite cholérique expérimentale, dont l'interprétation a donné naissance, jusqu'ici, à tant d'hypothèses, à tant de controverses.

Au contraire, tout s'explique à présent, si l'on tient compte de ceci, à savoir : l'évolution du processus péritonéal, pas plus que le constat bactériologique, n'ont aucun rapport direct ni avec la gravité, ni non plus, avec la durée de la maladie.

On est alors amené à se demander comment il se fait que l'animal meurt au moment où le sang devient stérile et où les vibrions ont presque entièrement disparu de la lymphe péritonéale.

Par intoxication, pourrait-on être tenté de répondre, en se rappelant les idées de l'école de Pfeiffer et notamment les conclusions de Issaeff et Kolle (1), concernant la prétendue et prompte désagrégation des vibrions, même dans la cavité péritonéale de cobayes neufs.

Dans un prochain mémoire, nous verrons que cette réponse ne répond pas à la réalité.

(1) Experimentelle Untersuchungen mit Choleravibronen an Kaninchent. *Zeitsch. für Hygiene*, 1894, vol. 48, p. 29.

## Résumé.

1<sup>o</sup> Les vibrions, aussitôt injectés dans la cavité péritonéale, à doses inférieures à la dose minima mortelle, pénètrent dans le réseau lymphatique épiploïque et se déversent tout de suite, par là, dans le sang circulant. Dans ce cas, l'intensité et la durée de la vibrionémie sont sensiblement plus grandes s'il s'agit d'une dose non mortelle.

2<sup>o</sup> L'arrivée des vibrions dans la circulation en plus forte proportion provoque un phénomène contraire. La typique et abondante diapédèse des polynucléaires au niveau de l'épiploon ne se produit pas. En pénétrant dans le sang, ils s'y comportent comme des corps « agressiniques » : ils repoussent les leucocytes au lieu de les attirer.

3<sup>o</sup> La mobilisation des polynucléaires du sang faisant défaut, l'organisme n'a pour se défendre que les leucocytes se trouvant dans le péritoine. Il s'ensuit une plus intense et plus grave inversion du sang par les vibrions injectés.

4<sup>o</sup> A partir de la troisième heure, l'activité des phagocytes cesse entièrement. Seul subsiste le pouvoir bactéricide de la sérosité, qui est dû, d'ailleurs, aux cellules du péritoine (leucocytes et cellules endothéliales). Ce pouvoir, toutefois, ne suffit pas à arrêter la multiplication des vibrions.

5<sup>o</sup> Cette multiplication qui s'accompagne, tout en devenant de plus en plus intense, d'une hyperproduction de complément est suivie par la transformation sphéruleuse des vibrions et leur exode ininterrompu dans la circulation.

6<sup>o</sup> Aussi, à partir de la troisième heure, après l'injection, le réseau lymphatique péritonéal, dépourvu de toute défense leucocytaire, est incessamment traversé par d'innombrables granulations vibrionniennes et de très nombreux vibrions, se déversant ensuite dans le sang circulant. Cette phase décide du sort de l'animal.

7<sup>o</sup> Soudain, vers la dixième heure, on remarque au niveau de l'épiploon, l'apparition d'une forte diapédèse et la reprise de la défense phagocytaire. En ce moment, l'organisme, bien qu'irrémediablement atteint, se réveille, se ressaisit et esquisse une ultime défense, révolte tardive et non proportionnée au besoin extrême.

8<sup>o</sup> Une telle épuration microbienne locale, tardive, mais assez énergique, effectuée par les phagocytes, survenue à la dernière heure, n'exerce pas d'influence sur le processus morbide général, si ce n'est sur le tableau bactériologique que l'on constate à l'autopsie, par les ensemencements de la lymphe, si la mort survient moins rapidement.

9<sup>o</sup> Il s'ensuit qu'à l'autopsie des cobayes morts les premiers, les ensemencements de la sérosité péritonéale, donnent un plus grand nombre de colonies de vibrions; au contraire, les ensemencements de la sérosité péritonéale des cobayes morts moins rapidement restent très pauvres ou stériles.

10<sup>o</sup> Les cobayes qui succombent à la suite d'une injection péritonéale de vibrions cholériques ne meurent donc pas en conséquence du processus local, c'est-à-dire de péritonite. Tout au contraire, ils meurent lorsque l'infection du péritoine semble déjà maîtrisée, sinon entièrement guérie. On doit donc rechercher ailleurs la cause de leur mort.

LÉGENDE DE LA PLANCHE I.

FIG. 1. — Sérosité péritonéale du cobaye neuf, tué six heures après l'injection péritonéale d'une culture de vibrions (dose mortelle). Beaucoup de vibrions sont déjà transformés en granulations de différentes grandeurs et même réunis en de petits amas (cobaye V). (Coloration au bleu polychrome. Obj. imm. 1/15 mm. Oc. 6 comp.)

FIG. 2. — Epiploon du même cobaye. Les cunicules du réseau lymphatique, gonflés, déformés et rendus variqueux par le volume considérable de leucocytes et surtout de granulations qu'ils renferment. (Coloration au bleu polychrome. Obj. 4, Oc. 4.)

FIG. 3. — La même préparation observée à fort grossissement. L'intérieur des capillaires lymphatiques apparaît farci de granulations vibroniennes avec beaucoup de polynucléaires. Tout l'épiploon est recouvert de granulations. Cà et là, on voit des vibrions d'apparence normale et de petits buissons de vibrions (centres de multiplication). (Coloration au bleu polychrome. Obj. imm. 1/15 mm. Oc. 4 comp.)

FIG. 4. — Epiploon du cobaye VII, tué treize heures après l'injection péritonéale d'une culture de vibrions. L'épiploon tout entier est encore semé de granulations et de vibrions, mais sensiblement en moins forte proportion. On constate quelques « centres de multiplication » de vibrions. Le gros capillaire lymphatique bifurqué qui traverse la préparation est plein de phagocytes, plus ou moins chargés de granulations vibroniennes et de quantité de vibrions. (Coloration au bleu polychrome. Obj. imm. 1/15 mm. Oc. 6 comp.)

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.



FIG. 1.

FIG. 2.

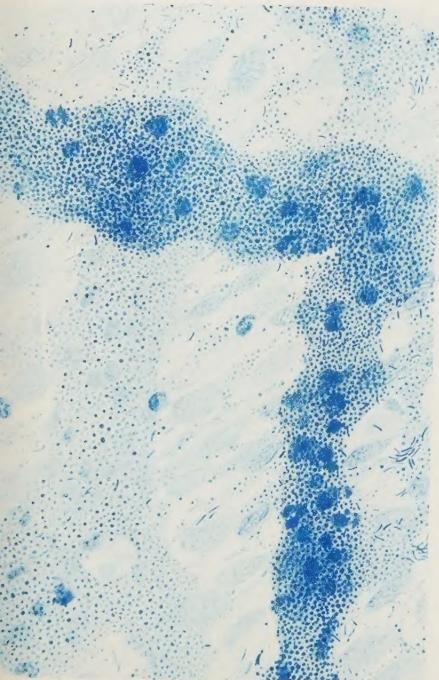


FIG. 3.

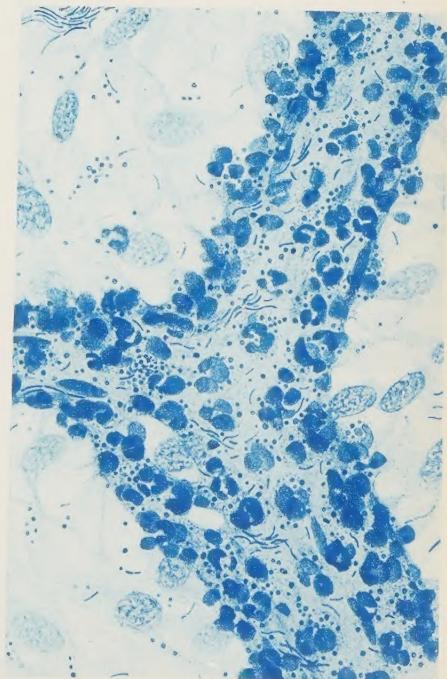


FIG. 4.

